



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **58155087 A**(43) Date of publication of application: **14.09.83**

(51) Int. Cl.

C12N 5/00
C12M 3/00
/(C12N 5/00 , C12R 1/91)

(21) Application number: **57039152**(71) Applicant: **OLYMPUS OPTICAL CO LTD**(22) Date of filing: **12.03.82**

(72) Inventor: **IZAWA MASAO**
TACHIKAWA SACHIKO

**(54) AUTOMATIC CULTIVATING PROCESS FOR
 CELL AND ITS DEVICE**

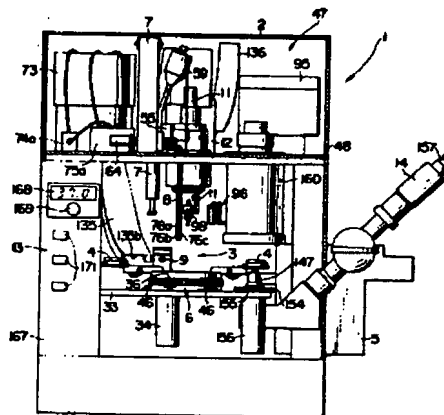
completely in the device 1.

COPYRIGHT: (C)1983,JPO&Japio

(57) Abstract

PURPOSE: To eliminate the bad influence on a culture cell caused by change of environmental conditions and to prevent effectively accidents such as the admixture of various germs, etc., by carrying out automatically all the processes required for the subculture of a cell in a culture chamber.

CONSTITUTION: The automatically cultivating device 1 is equipped with the culture chamber 3, which is kept under a constant atmosphere (e.g., at 37°C, 100% humidity 5% carbon dioxide gas concentration), at the central part of the box 2. The device 1 consists of the device 5 for feeding automatically the laboratory dish 4 to the culture chamber 3 and taking it out from the chamber, the transporting device 6, the discharge device 7, the liquid feeder 8, the device 9 for releasing a culture cell from a growth face by vibration, the distributing device 11, the laboratory dish feeder 12, the automatic control device 13 and the observation device 14. A large number of the laboratory dishes can be placed on a discoid plate, and cell propagation can be carried out



⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—155087

⑪ Int. Cl.³
C 12 N 5/00
C 12 M 3/00
#(C 12 N 5/00
C 12 R 1/91)

識別記号
庁内整理番号
7235—4B
6971—4B
—
6760—4B

⑬ 公開 昭和58年(1983)9月14日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 26 頁)

⑭ 細胞の自動培養方法およびその装置

⑯ 特 願 昭57—39152
⑰ 出 願 昭57(1982)3月12日
⑱ 発 明 者 井沢正雄
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
2号オリンパス光学工業株式会
社内

⑲ 発 明 者 立川幸子
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
2号オリンパス光学工業株式会
社内

⑳ 出 願 人 オリンパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番
2号

㉑ 代 理 人 弁理士 藤川七郎

明 細 書

1. 発明の名称

細胞の自動培養方法およびその装置

2. 特許請求の範囲

- (1) 被培養細胞の収納された培養容器中から不要な培養液を除去する廃液工程と、

上記被培養細胞を上記培養容器の生育面から剥離する剥離工程と、

上記培養容器に新たな培養液を注入して攪拌することにより、上記被培養細胞を単個化する攪拌工程と、

上記単個化された多数の被培養細胞を含む培養液を、2個以上の新しい培養容器に分けて注入する分注工程と、

上記新しい培養容器中に不足する培養液を注入する給液工程と、

上記新しい培養容器中の被培養細胞を増殖させる培養工程とを、

一定の雰囲気内に保たれた培養室内で自動的に進行することを特徴とする、細胞の自動培養方法。

- (2) 上記剥離工程が、上記培養容器中に洗浄液を注入して上記被培養細胞を洗浄する洗浄工程と、上記培養容器中から上記洗浄液を除去する廃液工程と、上記培養容器中に酵素液を注入して上記被培養細胞を上記生育面から遊離させる酵素処理工程と、上記培養容器中から上記酵素液を除去する廃液工程と、上記培養容器に機械的な振動を加え、上記被培養細胞を上記生育面より物理的に剥離させる振動工程と、からなることを特徴とする、特許請求の範囲第1項記載の細胞の自動培養方法。

- (3) 上記攪拌工程が、上記培養容器中の培養液を、同容器中に数回に亘って出し入れすることによって行なわれることを特徴とする、特許請求の範囲第1項記載の細胞の自動培養方法。

- (4) 一定の雰囲気内に保たれた培養室と、

被培養細胞の収納された培養容器中から不要な培養液を除去する廃液装置と、

上記被培養細胞を上記培養容器の生育面から剥離する剥離装置と、

上記培養容器に新たな培養液を注入して攪拌することにより、上記被培養細胞を単個化する攪拌装置と、

上記単個化された多数の被培養細胞を含む培養液を、2個以上の新しい培養容器に分けて注入する分注装置と、

上記新しい培養容器中に不足する培養液を注入する給液装置と、

上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置の動作を制御する制御装置と、を具備して、

上記制御装置によって、上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置の動作を制御することにより、上記培養室中で次世代培養用の培養細胞を自動的に作成するようにしたことを特徴とする、細胞の自動培養装置。

- (5) 上記培養室に、上記培養容器中の培養細胞の増殖状態を外部から観察するための観察装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

- (6) 上記培養室に、上記培養容器を自動的に搬入、搬出するための搬入・搬出装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

- (7) 上記培養室に、上記培養容器を、上記廃液装置、剥離装置、攪拌装置、分注装置および給液装置に向けて移動させるための転送装置を設けたことを特徴とする、特許請求の範囲第4項記載の細胞の自動培養装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、細胞の自動培養方法およびその装置、更に詳しくは、細胞の継代培養を一定の雰囲気内に保たれた培養室内で自動的に行なう培養方法、およびそれに使用する培養装置に関する。

周知のように、生体組織および細胞の培養技術は、医学、生物学、薬学、農学等のあらゆる分野において、細胞レベルの研究を行なうために必要不可欠な基礎実験技術である。しかし、生体組織および細胞を継代培養して安定した細胞株を得ることは技術的に難しく、従来は、一般に以下に述

べるような順次の工程を経て行なわれていた。

初めに、シャーレや培養用角瓶等の培養容器中に、単個化した被培養細胞を所定数収納し、これを培養液を注入することによって希釈する。すると、被培養細胞は培養液中で浮遊した状態となるので、この培養容器を所定の雰囲気内に保たれた培養室(例えば、温度37℃、湿度100%、炭酸ガス濃度5%)内に静置して細胞を増殖させる。所定期間経過後、培養容器を培養室内から取り出し、顕微鏡等の観察手段により細胞の培養状態を観察する。そして、必要とする分の細胞が増殖したことが確認された場合には、無菌状態のクリーンベンチ等内で無菌操作にて、次世代の培養系の作成に入る。

これはまず、培養容器中の培養液をピペット等で吸引して廃棄する。次に、培養容器中に残った細胞を、リン酸緩衝液等である洗浄液を注入することにより洗浄し、この後、洗浄液をピペット等で吸引して廃棄する。この洗浄工程は、古い培養液を洗い流し、次に述べる酵素処理工程において、

酵素が有効に機能を発揮できるようにするために行なわれる。続いて、培養容器の底面に着床して増殖した細胞を、生育面である上記底面より遊離させるために、トリプシン等の蛋白質分解酵素を含む酵素液を培養容器内に注入し、酵素を細胞に一定時間作用させる。次で酵素液をピペット等で吸引して廃棄した後、新しい培養液を培養容器中に注入し、これをピペット等で複数回に亘り吸引、排出を繰り返すことによって攪拌して、遊離した細胞を単個化し、培養液中に再浮遊させる。そして、単個化して再浮遊した多数の細胞を含む培養液を所定量ずつ複数の新たな培養容器中に分けて注入し、更に不足する培養液を補注して、次世代の培養系の作成を完了する。

次に、次世代の培養を行う培養細胞の収納された、上記複数の培養容器を所定の雰囲気内に保たれた培養室内に再び移し、その細胞を増殖させることによって培養を続行する。

このようにして、従来は生体組織および細胞の継代培養を行なっていたが、しかし、この継代培

養方法は、用手法であり、このため、種々の欠点があった。即ち、培養工程における順次の操作を行うたびに、培養容器を培養室外に取り出さなければならない、この際、環境条件の変化により、細胞が影響を受けて、増殖状態や寿命等が変化するという欠点があった。また、雑菌の混入等により、細胞が汚染されて死滅したり、変成したりするという欠点があった。さらに、培養技術者によりその手作業が異なり、その違いが細胞に様々な影響を与えて、細胞の増殖状態、寿命、形態等が変化し、一定の条件の下での標準化された培養を行ない得ないという欠点があった。さらにまた、培養細胞が病原菌等である場合には、バイオハザード（生物学的汚染）のおそれがあり、安全性にも問題があるという欠点もあった。

本発明の目的は、上記従来の種々の欠点を解消するために、一定の雰囲気（例えば、温度 37℃、湿度 100%、炭酸ガス濃度 5%）に保たれた培養室内で自動的に次世代の培養系を作成できるようにして、細胞の継代培養を一定の条件で連続的に行なえるようにした細胞の自動培養方法およびその装置を

提供するにある。

本発明によれば、培養室内で細胞の継代培養に要する全工程を自動的に連続して行なうことができるので、環境条件の変化による培養細胞への悪影響を除去することができると共に、雑菌の混入等の事故を有効に防止することができる。

また、培養工程における各種操作を自動化することにより、各種操作の標準化、統一化を図ることが可能となり、均一な培養細胞を安定して得ることができる。

さらに、培養細胞が培養室外にもれるおそれが少ないので、バイオハザードの危険性が少なく、安全度の高い培養を行なうことができる。

等の前記従来の欠点を悉く解消した、顕著な効果を発揮する細胞の自動培養方法およびその装置を提供することができる。

以下、本発明の方法および装置を、図示の一実施例に基づいて説明する。

第1図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養装置を示している。この自動培養装置1は、

同装置1の外装枠を形成する直方体状の筐体2の中央部に、一定の雰囲気（例えば、温度 37℃、湿度 100%、炭酸ガス濃度 5%）に保たれた培養室3が設けられていて、この培養室3に収納された培養容器であるシャーレ4に対して各種操作を加えるために種々の装置が付設されて構成されている。即ち、本自動培養装置1は、上記培養室3と、この培養室3に上記シャーレ4を自動的に搬入、搬出するための搬入・搬出装置5と、搬入されたシャーレ4を所定の各操作位置に移送する転送装置6と、上記シャーレ4内から不要になった液を吸引除去する廃液装置7と、上記シャーレ4内に培養に必要な液を供給する給液装置8と、上記シャーレ4に振動を加えて培養細胞を生育面から剥離させる剥離装置9と、上記シャーレ4中の液を攪拌したり、他の新しいシャーレ4に分注したりするための分注装置11と、新しいシャーレ4を供給するためのシャーレ供給装置12と、上記各種装置の動作を自動的に制御する制御装置13と、上記シャーレ4中の培養細胞を外部から観察する

ための観察装置14とで、その主要部が構成されている。

上記搬入・搬出装置5は、第1図および第2図に示すように、筐体2の右側壁のほぼ中央位置付近に、第3図に示すように、培養室3との外部とを連通するように設けられており、同装置5のハウジング21内は、筐体2の右側壁およびハウジング21内に形成された中間壁22によって、内室、中間室および外室の3室に区切られている。上記内室には、中央を支軸23aによって回転自在に軸支されたベルトコンベア23が、また、中間室には、シャッター24およびこれを開閉するソレノイド25、並びにベルトコンベア26が、さらに、外室には、シャッター27およびこれを開閉するソレノイド28、並びにベルトコンベア29が、それぞれ配設されている。

上記ベルトコンベア23は、その内端部がハウジング21の、上記内室の外壁に穿設された開孔21aを通過して培養室3内まで延び出しており、同内端部とハウジング21とに掛け渡された弾性性のコイ

ルばね31によって、支軸23aの周りを反時計方向に回転する習性を与えられている。この習性によるコンベア23の回転は、同コンベア23の外端部に連結された上記シャッター24が筐体2の右側壁に穿設された開孔2aを閉成した位置に停止することによって規制されている。この規制位置で、コンベア23の内端部は、後に詳述する転送装置6の載置部材42の下位に対応するようになっている。以下、コンベア23の内端部と対応する載置部材42の位置を、搬入・搬出位置と呼ぶことにする。このコンベア23は、上記シャッター24が開かれたときにはばね31の弾力に抗して時計方向に回転され、上記中間室のコンベア26から移送されてきたシャーレ4をその搬送力によって移送し転送装置6に載置したり、内端部に設けられた係合爪23bによってシャーレ4を引っ掛けてコンベア23上に載せて上記中間室のベルトコンベア26に向けて搬出したりするようになっている。中間室内の上記シャッター24は、上記開孔2aを気密的に閉閉するように揺動可能に配設されていて、ソレノイド25に

よって開閉動作されるようになっている。そして、上記開孔2aと対応する高さ位置には、上記ベルトコンベア26が配設されている。また、外室内の上記シャッター27は、中間室22に穿設された開孔22aを気密的に開閉するように揺動可能に配設されており、ソレノイド28によって開閉動作されるようになっている。このように、中間室は、両シャッター24,27によって気密的に開閉自在となっており、培養室3と外部とを直接連通させないための緩衝室となっている。この中間室を設けることにより、培養室3内の環境条件の急激の変化を防止することができると共に、外部からの雑菌等の培養室3内への侵入を予防することができる。そして、上記開孔22aに対応する高さ位置には、上記ベルトコンベア29が配設されていて、同コンベア29の外端部は、ハウジング21の外室の外壁に穿設された開孔21bを介して外部に露呈するトレイ32に対応している。

このように構成された搬入・搬出装置5によれば、シャーレ4の搬入時には、各ベルトコンベア

23, 26, 29の各駆動ローラーを反時計方向に回転させると共に、ソレノイド28,25に連時通電してシャッター27,24を開閉すれば、トレイ32上から送り込まれたシャーレ4がコンベア29, 26,23によって順次搬送され、その搬送力によりシャーレ4が転送装置6上に自動的に載置される。また、シャーレ4の搬出時には、各ベルトコンベア23, 26,29の各駆動ローラーを時計方向に回転させると共に、ソレノイド28,25に連時通電してシャッター24,27を開閉させれば、転送装置6上のシャーレ4が係合爪23bによって引っ掛けられてコンベア23上に載せられ、コンベア23, 26, 29によって順次搬送され、トレイ32上にシャーレ4が取り出される。なお、後に詳述するように、転送装置6の載置部材42には、ベルトコンベア23の内端部を搬入するための切欠42bが設けられていて、ベルトコンベア23の回転は載置部材42によって阻害されることはない(第4図参照)。

上記転送装置6は、第1図に示すように、培養室3内に設けられた基板33上に配設された回転

ブールで構成されていて、モーター34により回転駆動されるようになっている。即ち、転送装置6は、第4図に示すように、上記基板33に植立された支軸35aによって回転自在に支持された回転円板35と、この回転円板35の外周面に刻設された歯車35bに出力歯車36を噛合させて、同円板35を回転させる上記モーター34と、上記回転円板35の周縁部に各基部を固着されて等間隔に配設された複数のシャーレ載置部37と、このシャーレ載置部37の移動位置の検出を行なうための、回転位置および初期位置検出用の光学センサー44a, 44bとで、その主要部が構成されている。

上記シャーレ載置部37は、第5図にその要部を示すように、基部を上記回転円板35に固着された腕状の支持部材38と、この支持部材38の先端部に支軸39によって揺動自在に取り付けられた、平面形状が逆コの字形を呈する揺動部材41と、この揺動部材41の先端部部に固着された、一部が切り欠かれた円環状の載置部材42と、上記支持部材38の下面に一端が、上記揺動部材41の下面に他端が

それぞれ固着された二重の板ばね部材43と、上記載置部材42の先端部寄りの外周面に貼設された回転位置および初期位置検出用の光反射部材45a、45bとで構成されている。なお、初期位置検出用の光反射部材45bは、複数のシャーレ載置部37のうちの1つのシャーレ載置部37のみに設けられている。上記揺動部材41は、逆コの字形の凹部に支持部材38の先端部を嵌入させた状態で支軸39によって揺動自在に枢着されており、上記板ばね部材43の弾力によって、先端部を上方に向けて回転させるような付勢力を受けている。この付勢力による揺動部材41の回転は、平生は、図示しない規制手段によって、上記載置部材42を水平状態に保つ位置に規制されている。上記板ばね部材43が2重構造となっているのは、長期間の使用によっても弾力が劣化しないように、耐久性としなやかさを持たせるためである。上記載置部材42は、載置したシャーレ4が転送時に容易に脱落しないように、上面外周部にシャーレ4の底面壁の外径よりも若干大きな内径を有する突縁42aを備えており、

また、一部切り欠き部は同部に前述した搬入・搬出装置5のベルトコンベア23の内端部が嵌入して、シャーレ4を載置したり、取り外したりできるように形成したもので、これは載置部37の長手方向に対して一定角度傾いた切欠部42bで形成されている。

上記光学センサー44a、44bは、上記光反射部材45a、45bと対向し得る高さ位置に配設されていて、自ら発した光を光反射部材45a、45bで反射した後、受光して、シャーレ載置部37の位置検出を行なうようになっている。この光学センサー44a、44bは、ともに上記制御装置13に接続されていて、制御装置13は、両光学センサー44a、44bの出力に基づいて上記モーター34の回転を制御し、シャーレ載置部37を適正位置に移動させるようになっている。

なお、第1図および第4図中、符号46は、回転円板35の外周面の3等分位置にそれぞれ圧接して、同円板35の回転を円滑に規制する3個のガイドローラーを示している。

上記廃液装置7は、第1図に示すように、本体部が、筐体2内の、培養室3の上位に設けられた機械室47内に収納されていて、培養室3の天井壁48を貫いて、下部が培養室3内に延び出している。この廃液装置7は、第8図に示すように、図示しない吸引ポンプに接続された排液チューブ49の一端に上方の基端部が嵌着された排液管51と、この排液管51の上記上方の基端部寄りを固定して同管51を保持する支持部材52と、この支持部材52を内面の一部に固着する駆動ベルト53と、この駆動ベルト53を掛け渡された上下一対のプーリー54a、54bと、下位のプーリー54bを出力軸に取り付けたモーター55と、上記支持部材52に穿設されたガイド孔に挿通して、同部材52の移動を上下方向に規制するガイドバー56と、上記プーリー54a、54bやガイドバー56等を支持する支持板57と、上記排液管51の先端吸引ノズルとなる短円筒チューブで形成されたチップ58を収納するチップ収納器59と、このチップ収納器59を支持する収納器支持板61と、上記チップ収納器59に収納さ

れたチップ58の供給を制御するチップ供給制御装置62と、上記チップ収納器59とチップ供給制御装置62を接続するチップガイドチューブ63と、上記チップ供給制御装置62を駆動するソレノイド64と、上記培養室3の天井壁48を貫通して、同壁48に上端外方突出部を固定されたガイド管65と、このガイド管65の下端部に取り付けられたチップ挿脱管66とで、その主要部が構成されている。この廃液装置7において、チップ収納器59、チップ供給制御装置62、チップ挿脱管66等が設けられているのは、排液管51の下方先端部を直接シャーレ4中の液に浸漬して排液を行なった場合には、この先端部が異なるシャーレ4中に直接入ることになり、シャーレ4間の相互汚染が生ずるので、排液管51の先端にチップ58を装着一して、1回の排液動作ごとにこれを交換するようにしたためである。

上記チップ収納器59は、例えば直径3mm、長さ15mmの短円筒体チューブでなる上記チップ58を多数収納しておくためのものであって、下部が

円錐状の円筒体で形成されており、上端開口部には開閉自在の蓋59aが設けられていると共に、下端開口部は上記チップガイドチューブ63に接続されている。そして、このチップ収納器59は、上記収納器支持板61の上端部に固定されて支持されており、図示しない振動装置により振動を加えられて、薄い支持板61ともども振動して、チップ58を順次チップガイドチューブ63を通じて、チップ供給制御装置62に送り出すようになっている。

上記チップ供給制御装置62は、シリンダー部材67とピストン部材68とで主体が構成されていて、ピストン部材68には、同部材68の移動時に排液管51に衝合しないようにするための遊び孔68aと、チップ58を1つずつ収納して送り出すためのチップ収納孔68bとが、それぞれ上下方向に貫通するように設けられている。そして、ピストン部材68には、伸張性のコイルばね69によって右方への振動習性が与えられており、右方に向けて移動した位置で、上記シリンダー部材67に取り付けられたチップガイドチューブ63の他端と、チップ収納孔

68bとが対応して、同孔68b内に1つのチップ58が収納されるようになっている。また、上記ソレノイド64に通電すると、同ソレノイド64のプランジ64aに連結された上記ピストン部材68がばね69の弾力に抗して左方に向けて移動され、上記チップ収納孔68bが上記ガイド管65に穿設されたチップガイド孔65bに対応して、収納したチップ58を上記チップ排脱管66に供給するようになっている。

上記ガイド管65は、上端部に外方突出縁を有する円筒体で形成されていて、中心孔が上記排液管51を挿通する排液管ガイド孔65aとなっている。また、この排液管ガイド孔65aに平行するように上記チップガイド孔65bが穿設されている。上記チップ排脱管66は、プラスチック等の弾性変形可能な材質で形成されていて、その管内は、上端部から、円錐部、中径部、小径部の三段に連続して内径が変化している構造となっている。そして、小径部から中径部の中程にかけては、水平断面で見ると十字状の溝割66aが入れられており、さらに、

下方先端部の外方突出縁の上位の外周には、収縮性のリング状コイルばね71が嵌着されている。このため、平生は、ばね71の弾力により、溝割66aが閉じるようになっており、ガイド孔65bを介して供給されたチップ58は、円錐部によって案内されながら中径部に至り、同部で小径部によって位置規制されて待期状態を採るようになっている。

なお、廃液装置7の配設位置は、第4図に示すように、排液管51の下方先端部が上記転送装置6における1つの載置部材42の外周縁部寄りに対応するように定められている。以下、排液管51の対応する載置部材42の位置を、廃液位置と呼ぶことにする。また、排液管51の先端部は、その外周面に段差が形成されていて、先端部がチップ58の内周面に嵌合させやすいようになっていると共に、チップ58が排液管51に対して必要以上に嵌合しないように規制している。さらに、排液管51の外径は、チップ58の外径よりも若干小さくなるように選定されていて、排液管51の上方への復動時に、チップ58の上端面がチップ排脱管66の下端面に

衝合して、チップ58が自動的に排液管51から脱落するようになっている。

このように構成された廃液装置7によって、上記転送装置6に載置されて廃液位置に移動されたシャーレ4中から不要な液を除去するには、まず、ソレノイド64を駆動して、ピストン部材68を左方に向けて振動させ、チップ収納孔68bをチップガイド孔65bに対応させて、チップ収納孔68bに落下してあらかじめ収納されていたチップ58を、チップガイド孔65bを通じて自重によりチップ排脱管66に供給する。すると、チップ58は、平生は溝割66aが閉じた状態にあるので、中径部と小径部との間の傾斜段差面に係合して中径部に停留して待期状態となる。次に、モーター55を駆動して、ベルト53を移動させ、支持部材52を下方に向けて降下させる。すると、同部材52に固定された排液管51が一緒に降下し、その先端部がガイド管65の排液管ガイド孔65a内からチップ排脱管66内に進入する。そして、中径部位置で待期状態にある上記チップ58に当接し、排液管51の先端細

径部がチップ58の中心孔に嵌合して、排液管51にチップ58が緊密に嵌着される。排液管51が更に降下すると、チップ58が強制的に小径部内に進入し、摺動部材41がばね71の弾力に抗して押し開かれて小径部の内径が大きくなる。従って、排液管51は、小径部に強制的に進入し、チップ挿脱管66の先端部からチップ58を装着した状態で突出して、更に下降を続ける。そして、後述する蓋開閉装置78によって蓋4aを開放された状態にあるシャーレ4の底面壁の外周部寄りにチップ58の先端部を衝合させ、ばね43の弾力に抗して摺動部材41および載置部材42を回転させて、シャーレ4を若干傾斜させた状態で、モーター55が停止されて排液管51の降下が停止される。次に、図示しない吸引ポンプが駆動され、シャーレ4中の液体は、チップ58、排液管51、排液チューブ49を通じて、所定の廃液槽（図示されず）に排出される。この際、シャーレ4がチップ58によって押されて若干傾いた状態となっているので、シャーレ4内の液体はチップ58の先端開口付近に寄り集ってくること

なり、同液体はシャーレ4内に残留することなく、すべて吸引されて排出される。

上記吸引ポンプが一定時間作動され、シャーレ4中の液体の排出が完了すると、こんどは、モーター55が先程とは反対方向に回転され、排液管51が上方に向けて復動を開始する。すると、まず、チップ58を介して押されていたシャーレ4、載置部材42、摺動部材41が、押圧力を解除されて、ばね43の弾力により水平位置に復帰する。続いて、チップ58の上端面がチップ挿脱管66の下端面に衝合するまで、排液管51が上昇してくると、チップ58は上記衝合によりそれ以上上昇することができなくなり、排液管51だけがチップ挿脱管66内に進入し、チップ58と排液管51との嵌合が外れ、チップ58が自重によって脱落して、培養室3外のチップ保存槽（図示されず）内に自動的に収納される。この際、脱落する使用済のチップ58が、適当なガイド手段によって、シャーレ4中等に落下しないようにされていることはいうまでもない。

上記給液装置8は、シャーレ4中に、洗浄液、

酵素液および培養液の3種類の必要な液体を供給するための装置であって、第1図および第2図に示すように、上記洗浄液、酵素液および培養液をそれぞれ収納する収納容器72a, 72b, 72cと、これら収納容器72a, 72b, 72cを収納して、例えば1℃〜4℃程度の底温で貯蔵する冷却貯蔵槽73と、収納容器72a, 72b, 72c中の各液をシャーレ4に供給するためのローラーポンプ74a, 74b, 74cと、このローラーポンプ74a, 74b, 74cによって送り出される各液を、培養室3の雰囲気温度と同じ温度（例えば37℃）まで加温するための加温器75a, 75b, 75cと、上記各液を給液位置まで導く給液チューブ76a, 76b, 76cとで構成されている。

上記冷却貯蔵槽73は、通常の冷蔵庫と同様に、冷媒の膨張、圧縮時の吸熱・発熱現象を利用して槽内を冷却するものであって、図示しない温度センサーにより槽内温度を検出し、この出力に基づいてコンプレッサー（図示されず）を作動させて、槽内が一定温度となるように制御されている。この冷却貯蔵槽73は、高い温度条件下で酵素液や培

養液を長期間保存した場合には、酵素液中の酵素（例えばトリプシン）が失活したり、培養液中のビタミンやアミノ酸が失活したりするので、これを防止するために上記各液を冷却して保存するように設けられている。

上記ローラーポンプ74a, 74b, 74cは、回転するローラー（図示されず）と、これを送液チューブに押し付けるアーム（図示されず）とで主体が構成された既に周知のものであって、上記ローラーの圧接回転によって送液チューブ中の液体を給送するものである。このローラーポンプ74a, 74b, 74cは、上記ローラーの回転数により、給液量を正確に制御することができるという利点がある。また、上記加温器75a, 75b, 75cは、ヒーター（図示されず）と温度センサー（図示されず）を内蔵していて、上記温度センサーの出力に基づいて上記ヒーターへの通電を制御することにより、同加温器75a, 75b, 75cから流出する液体の温度を培養室3の温度と同様の一定温度まで上昇させる役目をする。この加温器75a, 75b, 75cは、上記冷却貯

蔵槽73で冷却保存された液体を直接培養室3内のシャーレ4に供給した場合には、温度条件の激変によりシャーレ4中の培養細胞が死滅ないしは変成してしまうので、これを防止するために設けられている。

なお、第1図および第4図に示すように、上記給液チューブ76a, 76b, 76cの給液端は、天井壁48を貫通して培養室3内に導き入れられ、上記転送装置6における1つの載置部材42の中央に対応するようになっている。以下、このチューブ76a, 76b, 76cの直下の載置部材42の位置を、給液位置と呼ぶことにする。また、上記収納容器72a, 72b, 72cには、第2図に示すように、0.2 μ 程度の通気用フィルター77a, 77b, 77cがそれぞれ取り付けられており、同容器72a, 72b, 72c内への空気の流入時に雑菌等が混入しないようにして、培養液等の保存および給送が無菌的に行なわれるようになっている。

また、第4図に示すように、上記給液装置8の給液チューブ76a, 76b, 76cの給液端の対応する位

置、即ち給液位置と、上記廃液装置7の排液管51の先端が対応する位置、即ち廃液位置とに、それぞれ移動された転送装置6のシャーレ載置部37の径方向の外方位置には、給液および廃液時にシャーレ4の蓋4aを開閉するための蓋開閉装置がそれぞれ配設されている。この蓋開閉装置78は、第7図に示すように、シャーレ4の蓋4aを両側面から挟持するための左右一対のアーム部材79, 81と、右方のアーム部材81の基部を一体的に固着した駆動歯車82と、この駆動歯車82に噛合された出力歯車83を出力軸に取り付けたモーター84と、上記右方のアーム部材81の基部寄りの上面に一端部を固着されていて、同部材81とは直交する左方に向けて他端部が延長された連結部材85と、この連結部材85の他端部に植設されていて、上記左方のアーム部材79の中程を揺動自在に枢着する支軸86と、上記アーム部材79, 81の先端部寄りに掛け渡されていて、左方のアーム部材79の先端部が右方のアーム部材81の先端部に近寄るように、左方のアーム部材79を支軸86の周りに時計方向に回動

するように付勢する緊縮性のコイルばね87と、上記左方のアーム部材79の後端部の右側面に固着された強磁性体なる吸着片88と、上記両アーム部材79, 81が蓋4aを挟持し得る位置(第7図に示す位置)まで回動した状態で、上記吸着片88と対向するように配設された電磁石89とで、構成されている。なお、上記両アーム部材79, 81の先端部寄りの内面がわには、蓋4aを挟持しやすいように、部分円弧状の切欠面79a, 81aがそれぞれ形成されている。また、上記ばね87の弾力によるアーム部材79の回動は、平生は図示しない規制手段によって、両アーム部材79, 81の先端部で蓋4aを挟持するに充分で、かつ、電磁石89による吸着磁力が吸着片88に有効に作用し得る位置に規制されている。

このように構成された蓋開閉装置78によってシャーレ4の蓋4aを開放する場合には、まず、モーター84に通電して同モーター84を反時計方向に回転させ、出力歯車83を通じて駆動歯車82を支軸82aの周りに時計方向に回転させる。すると、平生は起立位置に置かれているアーム部材81が、駆

動歯車82と共に時計方向に回動される。また、連結部材85を介してアーム部材79もアーム部材81と一緒に起立位置から水平位置に向けて移動される。そして、両アーム部材79, 81が水平位置となる直前の段階で、こんどは電磁石89に通電が開始される。すると、電磁石89に対向する位置まで移動してきていた吸着片88が電磁石89に吸引され、アーム部材79がばね87の弾力に抗して支軸86の周りを反時計方向に回動されて、アーム部材79の先端部は、蓋4aの上面と衝合する位置から側方に退避する。そして、モーター84の回転の続行によりアーム部材79, 81が水平位置まで移動すると、モーター84への通電が断たれて、アーム部材79, 81が水平状態で停止されると共に、電磁石89への通電も断たれる。すると、電磁石89の吸着磁力による拘束を解除されたアーム部材79は、ばね87の弾力により支軸86の周りを時計方向に回動し、アーム部材79, 81の両切欠面79a, 81aで蓋4aの両側面を挟み付けて、同蓋4aを挟持する。この際、前記転送装置6の載置部材42の夾板42aとシャー

レ4との間には若干の間隙があるので、蓋4aはシャーレ4ともども若干移動して、両アーム部材79,81によってしっかりと挟持される。蓋4aがアーム部材79,81に挟持された後、再びモーター84に通電が行なわれ、こんどは先程とは反対の時計方向に回転される。すると、出力歯車83を介して駆動歯車82が反時計方向に回転され、両アーム部材79,81が蓋4aを挟持した状態で一体に反時計方向に回転する。両アーム部材79,81が起立位置まで復帰すると、モーター84への通電が断たれて同モーター84が停止し、蓋4aの開放動作が完了する。

次に、開放した蓋4aを再びシャーレ4に被せて閉成する場合には、まず、開放動作のときと同様に、モーター84に通電して同モーター84を反時計方向に回転させ、出力歯車83を介して駆動歯車82を時計方向に回転させる。すると、両アーム部材79,81が水平位置に向けて移動するので、水平位置に達した時点でモーター84を停止させると、両アーム部材79,81は、挟持する蓋4aをシャーレ4に被せた状態でその移動を停止する。次に、電

磁石89を励磁させると、同電磁石89に対向する位置にある吸着片88が吸引され、アーム部材79がばね87の弾力に抗して、支軸86の周りを反時計方向に回転されて、アーム部材79の先端部が蓋4aの側面と当接する位置から側方に退避する。続いて、モーター84を先程とは反対の時計方向に回転させれば、両アーム部材79,81が蓋4aを挟持することなく起立位置に向けて移動を開始する。そこで、両アーム部材79,81が蓋4aを再び挟持し得なくなる位置まで移動した時点で電磁石89を消磁させれば、アーム部材79がばね87の弾力により支軸86の周りを時計方向に回転され、図示しない規制手段によって、所定位置で停止される。そして、両アーム部材79,81が起立位置まで復帰した時点で、モーター84の回転を停止させれば、蓋4aの閉成動作が完了する。

上記剥離装置9は、第1図および第4図に示すように、培養室3内の上記転送装置6の一侧方に配設されていて、第8図に示すように、図示しない電源装置から断続的に電流を通電されて振動を

発生するソレノイド91と、このソレノイド91を支持する支持部材92と、上記ソレノイド91のブランジ+91aの先端部に取り付けられた叩打部材93と、上記支持部材92に固着されて上記転送装置6上に載置されたシャーレ4の直上に位置するシャーレ押え部材94とで構成されている。この剥離装置9は、後に詳述する分注装置11による攪拌操作だけでは、酵素処理後の培養細胞をシャーレ4の生育面から充分に剥離させることが難しいので、シャーレ4に横方向からの振動を加え、細胞を生育面から確実に剥離させるために、設けられている。

上記支持部材92は、側方から見てクランク状に折り曲げられており、基端部が上記基板33に固着されている。そして、支持部材92の、垂直方向の中間部に上記ソレノイド91が取り付けられている。このソレノイド91は、支持部材92に穿設された開孔92aにブランジ+91aを貫通させた状態で、このブランジ+91aの先端部が転送装置6上のシャーレ4の一侧面に向うように支持部材92に固定

されており、ブランジ+91aの先端部には、プラスチック、ゴム等のシャーレ4に当たってもシャーレ4を破損しない材質でできた上記叩打部材93が取り付けられている。また、支持部材92の先端部は、水平にシャーレ4の上位にまで延び出しており、その下面にプラスチック、ゴム等の材質で形成された上記シャーレ押え部材94が固着されている。なお、上記ソレノイド91には、調整用のビス91bが設けられていて、このビス91bを回転調節することにより、シャーレ4に加えられる振動力を調整することができるようになっている。

このように構成された剥離装置9によってシャーレ4に振動を加え、細胞を剥離させるためには、まず、ソレノイド91に断続的に電流を通電する。すると、ブランジ+91aが電流の通電周期で左右方向に往復移動し、左方に往動した位置で叩打部材93の先端部によってシャーレ4の側面ないしは蓋4aの側面を叩く。このため、シャーレ4は載置部材42の突縁42aによって移動を許容される範囲で急激に、かつ、周期的に振動する。この振動に

より、シャーレ4内で生育面である底面から遊離状態にある培養細胞が次第に剥離され、約1分間ほど振動を加え続ければ、培養細胞が完全に底面から剥離される。この剥離動作の際、振動により蓋4aがシャーレ4から外れる方向の力を受けることもあるが、蓋4aの直上に押え部材94があるので、蓋4aが外れるおそれはない。従って、剥離された培養細胞が、シャーレ4外に飛び出すおそれもない。

上記分注装置11は、第1図に示すように、本体部が上記機械室47内に配設されていて、培養室3の天井壁48を貫通して分注操作部が培養室3内に延び出している。この分注装置11は、シャーレ4中の培養液を、ビベット97(第9図参照)により複数回吸引・排出を繰り返すことによって攪拌したり、後に詳述するシャーレ供給装置12から供給された新しい複数のシャーレ4に分注したりする役目をするもので、同装置11には、ビベット供給装置95およびビベット離脱装置96が付設されている。このように、ビベット供給装置95およびビ

ベット離脱装置96を付設したのは、1つのビベット97で複数のシャーレ4中の培養液の攪拌、分注を行なった場合には、シャーレ4間で相互汚染が生ずるおそれもあるので1つのシャーレ4中の培養液に対する攪拌、分注操作を行ったごとにビベット97を交換するようにしたためである。

上記分注装置11は、第9図に示すように、吸引端98aにビベット97を装着されるペローズポンプ98と、このペローズポンプ98を自由端部に載置するように取り付けられた回転アーム99と、この回転アーム99の基部を底面に固着する回転摺動軸101と、この回転摺動軸101を回転および摺動自在に支持する軸受部材102と、上記回転摺動軸101の上端部寄りに取り付けられた駆動歯車103と、この駆動歯車103に啮合された出力歯車104と、この出力歯車104を出力軸に固定した回転駆動用モーター105と、上記回転摺動軸101の上端部にブランジャ106aを連結させた摺動用ソレノイド106と、上記ブランジャ106aに巻装されていて、上記回転摺動軸101を下方に向けて付勢する伸張性

のコイルばね107とで、その主要部が構成されている。

上記ペローズポンプ98は、既に周知のものであって、短円柱体の外形を有しており、その下端面の中央位置からは、管状の吸引端98aが下方に向けて突設されている。そして、この吸引端98aの中程には銜部98cが設けられていて、この銜部98cとポンプ98との間には、伸張性のコイルばね108が巻装されている。このコイルばね108は、第11図に示すように、ペローズポンプ98が回転アーム99の先端部に設けられた切込99aに吸引端98aを嵌入させることによって、回転アーム99に着脱自在となるように配設されるので、切込99aに吸引端98aの基端部を嵌合させて、ペローズポンプ98を回転アーム99の先端部に装着した際に、回転アーム99と銜部98cとを相離れる方向に付勢して、ペローズポンプ98を回転アーム99にしっかりと固定する役目をする。また、吸引端98aへのビベット97の嵌合時に、吸引端98aがばね108の弾力に抗して移動できるようにして、吸引端98a

とビベット97との嵌合力を一定にする役目もする。このようにペローズポンプ98を着脱自在に配設したのは、ペローズポンプ98を単独で取り外して殺菌できるようにしたためである。なお、吸引端98aの先端部は、ビベット97に嵌合しやすいように、先端に行くほど細径となるテーパ状に加工されている。

第9図に戻って上記軸受部材102は、上端部に銜部を有する円筒体で形成されていて、培養室3の天井壁48に穿設された貫通孔に嵌合され、上記銜部で抜け止めされて、天井壁48に固定されている。この軸受部材102は、内周面の上下端部寄りにボールベアリング機構109を備えていて、円柱体でなる上記回転摺動軸101を嵌合して、これを回転および摺動自在に支持している。また、上記出力歯車104は、駆動歯車103に比べて、啮合面が幅広に形成されていて、回転摺動軸101が上下方向へ移動しても、常に出力歯車104と駆動歯車103との啮合状態が維持されるようになっている。さらに、上記ソレノイド106やモーター105は、

ハウジング111内に収納されていて、このハウジング111またはこれと一体の基板111aに固定されている。

なお、特に図示しなかったが、この分注装置11には、いくつかの位置検出センサーが設けられていて、回転アーム99の回転位置が適正な所定位置に自動的に制御されるようになっている。また、第4図に示すように、上記回転アーム99が最も時計方向に回転した位置では、ペローズポンプ98の吸引端98aは、転送装置6の1つの載置部材42の外周縁部寄りに対応するようになっている。以下、このペローズポンプ98の吸引端98aが対応する載置部材42の位置、または、載置部材42に対応するペローズポンプ98の位置を分注位置と呼ぶことにする。また、この分注位置にある転送装置6の載置部材42に対応する径方向の外方位置には、前記給液位置および廃液位置に対応するように配置されていたものと同じ蓋開閉装置78が配設されている。この蓋開閉装置78が、攪拌操作時ないしは分注操作時に、ジャーレ4から蓋4aを開放し、こ

れらの操作終了時にジャーレ4に再び蓋4aを閉成する役目をするとは云うまでもない。

上記ビベツト供給装置95は、第1図および第2図に示すように、その本体部が上記機械室47の後部右端寄りに配設されていて、上記分注装置11にビベツト97を1つずつ供給するようになっている。このビベツト供給装置95は、第10図に示すように、回転軸112に中心部を固定されていて、外周縁部に等間隔に複数のビベツト収納用切欠113aが形成された回転円板113と、上記ビベツト収納用切欠113aに収納されて保持されたビベツト97に係合して、これを切欠113aから落下させるビベツト供給用レバー114と、このビベツト供給用レバー114を非供給位置に退避させるためのソレノイド115と、上記ビベツト供給用レバー114を供給位置に向けて付勢する振りばね116と、上記回転円板113、ビベツト供給用レバー114等を収納していて、底面壁の一部にビベツト通過用の貫通孔117aが、上記培養室3の天井壁48に穿設された開孔(図示されず)と対応するように穿設さ

れたハウジング117と、このハウジング117の底面壁の下面に図示しない案内手段によって気密的に摺動自在となるように配設されていて、上記貫通孔117aと対応する開孔118aが穿設されたシャッター板118と、このシャッター板118に一腕端が連結されたシャッター駆動レバー119と、このシャッター駆動レバー119の他腕端にブランジャ121aが連結されたシャッター駆動用ソレノイド121と、上記貫通孔117aと対応する培養室3内の位置に配設されたビベツト受け部材122(第11図参照)と、このビベツト受け部材122の更に下位に配置された衝撃吸収用のコイルばね123(第11図参照)とで、その主要部が構成されている。

上記ビベツト収納用切欠113aは、上記ビベツト97の外径よりもやや大きな内径の縦孔の内周面に、キー溝状の縦溝を、回転円板113の径の内外方向に対応する位置に対称となるように穿設し、外径方向の縦溝を円板113の外周にまで連通させた形状を有しており、この切欠113aの周りの、円板113の上面の一部には、ビベツト97の上端部の

対称位置に突設された係止用突起97aと係合する浅い凹陥部113bが形成されている。この凹陥部113bは、回転円板113の中心から見て、外径方向の縦溝に対して右側方に、内径方向の縦溝に対しては左側方に、それぞれ対称的に設けられている。この凹陥部113bは、上記切欠113aに上方から挿入されて、突起97aを凹陥部113bに係合されて収納位置に保持されたビベツト97が妄りに移動しないように規制する役目をする。

上記ビベツト供給用レバー114は、L字状の板体で形成されていて、支軸124によって揺動自在に軸支されており、同支軸124に巻装され、一端をレバー114の一腕に、他端をストップピン125に、それぞれ係止された閉脚習性を有する振りばね116によって、支軸124の周りを時計方向に回転する習性が与えられている。この習性によるレバー114の回転は、平生は、レバー114の他腕端がソレノイド115のブランジャ115aの先端に係合することによって規制されている。そして、この規制位置では、レバー114の一腕端の一方

に突設されたビベット係合部 114a が、切欠 113a に収納されたビベット 97 との係合位置から退避している。また、上記ソレノイド 115 に通電を行なうと、ブランジャ 115a がソレノイド 115 内に引き込まれるので、レバー 114 はばね 116 の弾力により支軸 124 の周りを時計方向に回転し、一腕の側面をストッパピン 125 に衝合させて、上記ビベット係合部 114a がビベット 97 の突起 97a と係合可能な係合位置まで移動するようになっている。

上記シャッター駆動レバー 119 は、支軸 126 に揺動自在に軸支されていて、一腕端に穿設された長孔 119a をシャッター板 118 に植立されたピン 127 に嵌合させて、シャッター板 118 に連結されている。また、他腕端に穿設された長孔 119b を、ブランジャ 121a に植設されたピン 128 に嵌合させて、ソレノイド 121 に連結されている。このシャッター駆動レバー 119 は、ソレノイド 121 に通電を行なうと、ブランジャ 121a がソレノイド 121 内に引き込まれ、支軸 126 の周りに時計方向に回転して、シャッター板 118 をその開孔 118a がハ

ウジング 117 の貫通孔 117a と一致する位置まで揺動させるようになっている。そして、両孔 117a, 118a が一致することにより、上記レバー 114 によって既に切欠 113a 内に落し込まれていたビベット 97 は、両孔 117a, 118a および天井壁 48 の貫通孔を通して、培養室 3 内に落下するようになっている。この後、ソレノイド 121 への通電が断たれることにより、同ソレノイド 121 内からブランジャ 121a が突出して、シャッター板 118 は自動的に閉成位置に復帰する。

上記ビベット受け部材 122 は、第11図に示すように、ビベット 97 の外径よりやや大きな内径を有する、縦方向に2つ割りにした円筒体で形成されていて、その上記分注位置がわの半部 122a は、支軸 122b によって開閉自在となるよう配設されており、平生は、図示しない弾性手段によって支軸 122b の周りを反時計方向に回転する習性を与えられて、他方の半部に衝接して停止している。このビベット受け部材 122 は、ビベット受け位置に配設されていて、上記ハウジング 117 内から培養

室 3 内に落下してくるビベット 97 を、適当なガイド手段を介して、あるいは介することなしに、その中央孔に嵌合させ、ビベットの突起 97a を上端開口周縁に衝合させて保持するようになっている。また、上記コイルばね 123 は、ビベット 97 の外径よりも細めに巻回されて形成されていて、落下しながらビベット受け部材 122 に嵌合するビベット 97 の下端部を嵌合させ、このとき若干巻径を太らせながら、ビベット 97 の落下による衝撃を吸収して、ビベット受け部材 122 にビベット 97 を緩衝的に係止させ、ビベット 97 の跳ね返りを防止する役目をする。上記ビベット受け部材 122 が配置されたビベット受け位置は、第12図に示すように、上記ペローズポンプ 98 の回転軌跡上に対応していて、分注装置 11 がペローズポンプ 98 をビベット受け位置まで回転させ、回転揺動軸 101 を降下させると、ポンプ 98 の吸引端 98a が、ビベット受け部材 122 に受けられて位置決めされたビベット 97 の上端開口に嵌合して、吸引端 98a がビベット 97 が装着されるようになっている。そして、回転揺

動軸 101 を上方に向けて復動させた後、同軸 101 を反時計方向に回転させて、ペローズポンプ 98 を分注位置に向けて移動させれば、吸引端 98a が装着されたビベット 97 によって、ビベット受け部材 122 の半部 122a が押し動かされて支軸 122b を中心として回転して開き、ビベット 97 がペローズポンプ 98 に装着された状態で分注位置に取り出される。そして、上記半部 122a は、図示しない弾性手段の弾力によって支軸 122b の周りを回転して、再び他の半部に衝接するビベット受け状態に復帰する。

一方、上記ビベット離脱装置 96 は、第1図に示すように、培養室 3 内に設けられていて、第11図に示すように、回転軸 131 と、この回転軸 131 に固定されたカムレバー 132 と、このカムレバー 132 に一端が係着されていて、同レバー 132 に回転軸 131 を中心として時計方向に回転する習性を与える緊縮性のコイルばね 133 と、このコイルばね 133 の弾力によるカムレバー 132 の回転を所定のビベット離脱位置に規制するストッパピン 134

(第12図参照)とで構成されている。

上記カムレバー132には、回転軸131から大きく延び出した一端部に、上記ペローズポンプ98の昇部98cとビベット97との間に嵌入して両者を引き離すための一対の楔型カム部132a,132bと、この引き離しが完了した後に、ペローズポンプ98の吸引端98aを通過させるための切欠132cとが形成されている。上記楔型カム部132a,132bは、上記吸引端98aの移動を妨げないように、一旦立ち上げられた後再び径方向に延び出すようにして形成されており、一方のカム部132aには、上記ストッパービン134と衝合するための壁部132dが一体に形成されている。また、上記切欠132cは、両カム部132a,132b間に縦方向に形成されており、カムレバー132がストッパービン134に係合した平生位置では、第12図に示すように、上記ペローズポンプ98の吸引端98aの回転軌跡上に対応するようになっている。なお、上記回転軸131は、図示しないロータリーソレノイド等によって、ばね133の弾力に抗して反時計方向に一定角度回転す

るようになっている。上記一定角度回転した際には、カムレバー132をペローズポンプ98の回転軌跡中から退避させるようになっている。

このように構成されたビベット離脱装置96は、分注装置11が使用済のビベット97を廃棄するために、分注位置からビベット受け位置に向けてペローズポンプ98を回転させる際には、カムレバー132がストッパービン134に係合するビベット離脱位置にある。従って、ペローズポンプ98がビベット97を装着した状態でカムレバー132の先端位置まで回転してくると、楔型カム部132a,132b間にポンプ98の吸引端98aが嵌入し、昇部98cがカム部132a,132bの上斜面に当接すると共に、ビベット97の上端面がカム部132a,132bの下面に当接するようになる。そして、この状態からペローズポンプ98が更に回転すると、昇部98cがカム部132a,132bの上斜面によって押し上げられ、昇部98cとビベット97との間が押し広げられる。このため、吸引端98aに嵌着されていたビベット97は、吸引端98aより外れ、自重によって下方に向けて

落下し、ビベット97の離脱が行なわれる。この落下したビベット97は、下方に配設されたビベットガイド部材(図示されず)を通過して、培養室3外に設けられたビベット保存槽(図示されず)に導びかれ保存される。このようにして保存されたビベット97は、後にまとめて回収され、洗浄、殺菌後、再使用される。なお、上記ビベット保存槽と培養室3との間には、両者間の通気によって培養室3内が汚染されるのを防止するため、シリコンゴム製の薄膜フィルター等なる防塵、防菌フィルターが設けられている。また、ペローズポンプ98は、使用済のビベット97を離脱した後、更に回転を続けてビベット受け位置まで一旦移動し、しかる後、回転駆動軸101の回転方向の反転により、再び分注位置まで復動して、次のビベット装着動作時まで待機状態となる。

次に、分注装置11が新しいビベット97を装着した状態でペローズポンプ98を分注位置に復動させる際には、ビベット離脱装置96は、回転軸131を反時計方向に回転させ、ばね133の弾力に抗し

て、カムレバー132を回転させて、ペローズポンプ98の回転軌跡中から退避させる。このため、ペローズポンプ98はカムレバー132にぶつかることなく、ビベット97を装着した状態で分注位置まで復動し、カムレバー132はこの後回転軸131の回転力を取り除かれて、ばね133の弾力により、ストッパービン134に衝合するビベット離脱位置まで復帰する。

上記シャーレ供給装置12は、第1図および第2図に示すように、上記機械室47の後部中程に本体部が配設されていて、この本体部よりシャーレガイド用のシューター135が培養室3内に延び出すように形成されている。上記シャーレ供給装置12の本体部は、第1,13図に示すように、殺菌したシャーレ4を斜めに積み上げて収納しておくためのシャーレ収納部136と、このシャーレ収納部136の下端部に連通していて、同部136からシャーレ4を1つずつ取り出して上記シューター135に送り出す円形転送部137と、この円形転送部137を取り囲んでいて、底面壁が上記円形転送部

137の底面壁を兼ねるハウジング138と、上記円形転送部137の中心に設けられた回転軸139と、この回転軸139に基部を固定されていて、自由端部がシャーレ4に当ってこれを押し動かす回転アーム141と、上記円形転送部137の、上記シャーレ収納部136とはほぼ対向する位置の底面壁に穿設されたシャーレ送り出し用の開孔137aと、上記ハウジング138の底面壁の下面に図示しない案内手段によって気密的に揺動自在となるように配設されていて、上記開孔137aに対応する開孔142aが穿設されたシャッター板142と、このシャッター板142に一端部が連結されたシャッター駆動レバー143と、このシャッター駆動レバー143の他端部にブランジャ144aが連結されたシャッター駆動用ソレノイド144とで、その主要部が構成されている。

上記シャーレガイド用シューター135は、その横断面の形状がシャーレ4を通過させる横長の四角形状に形成された管体で構成されていて、滑り台の如く緩やかに彎曲しながら、天井壁48を貫通

内に送り出されるようになっている。上記回転アーム141は、自由端部が円形転送部137の周壁に向けて延び出していて、その回転方向の一側方には上記収納部136より送り出されたシャーレ4を引っ掛けるための爪部141aが形成されている。この回転アーム141は、回転軸139が図示しないモーター等によって反時計方向に回転されると、これによって反時計方向に回転し、収納部136より送り出されたシャーレ4を引っ掛けて、円形転送部137の内周壁に沿って押し動かしながら、シャーレ4を一旦開孔137aの手前の待期位置まで移動させて停止する。そして、シャーレ供給時になると、再び反時計方向への回転を開始して、開孔137aおよび上記回転に同期して同開孔137aに対応するように移動したシャッター板142の開孔142aを通じて、シャーレ4をシューター135に供給するようになっている。

上記シャッター駆動レバー143は、支軸145に揺動自在に軸支されていて、一端部に穿設された長孔143aをシャッター板142に植立されたピン

して、機械室47内から培養室3内に向けて延び出しており、その上端のシャーレ送入口135aは、上記ハウジング138の底面壁に穿設された開孔137aに、上記シャッター板142がスライドできるだけの間隙を介して対向している。また、第4図に示すように、下端のシャーレ送出口135bは、上記転送装置6における1つの載置部材42の上位に対応していて、シューター135を通じて開孔135bに達したシャーレ4は、自重によって載置部材42上に落下し、同部材42に載置されるようになっている。以下、この開孔135bの直下の載置部材42の位置を、シャーレ供給位置と呼ぶことにする。

上記シャーレ収納部136は、既述したようにシャーレ4を斜めに積み上げて収納するようになっており、同部136より円形転送部137に送り出されたシャーレ4が第13図に示すように、回転アーム141によって押し動かされて移動されると、上位に積み上げられたシャーレ4の自重により、最下位にあるシャーレ4が自動的に円形転送部137

130に嵌入させて、同板142に連結されている。また、他端部に穿設された長孔143bに、ブランジャ144aに植設されたピン146を嵌入させて、ソレノイド144に連結されている。このシャッター駆動レバー143は、ソレノイド144に通電を行なうと、同ソレノイド144内からブランジャ144aが突出して、これにより支軸145の周りに反時計方向に回転し、シャッター板142を、その開孔142aがハウジング138の開孔137aと一致する位置まで撓動させるようになっている。両孔137a,142aが一致した状態で、上記回転アーム141によって押し動かされてきたシャーレ4が、両孔137a,142aを通じてシューター135内に落下することはいうまでもない。シャッター板142は、ソレノイド144への通電を解除すると、同ソレノイド144内にブランジャ144aが引き込まれ、自動的にシャッター閉成位置に復動する。

このように構成されたシャーレ供給装置12によれば、回転アーム141が1回転することにより、収納部136内に積み上げられたシャーレ4が1つずつ

円形転送部137に取り出されると共に、開孔137aおよび142aを通じてシャーレ4が1つずつシユーター135に送り出される。よって、転送装置6の載置部材42上にシャーレ4が1つずつ自動的に供給されることになる。

上記観察装置14は、第1図および第2図に示すように、筐体2の右側壁の前部寄りに、接眼部を外部に突出させ、対物部および光源部を培養室3内に収納させて配設された顕微鏡でなっていて、光源部を対物部に対して上位に置いた、いわゆる倒立形に形成されている。上記接眼部は、通常の顕微鏡と同様に形成されているのに対して、対物部は、外部から対物レンズ147を焦点合せのために移動させなければならないので、対物レンズ147の駆動機構が電動式に形成されている。即ち、この対物レンズ147の駆動機構は、第15図に詳しく示すように、対物レンズ147を上端内周面部に装着して、上端部寄りに形成された外向鏝部の外周面にヘリコイド雄ねじ148aが刻設され、かつ、下部外周面の一部に光軸方向の案内用長孔

148bが穿設された光軸摺動筒148と、この光軸摺動筒148の下部外周に嵌合して、下端部を顕微鏡の不動枠体149（第14図参照）に固定された軸受筒151と、この軸受筒151の外周面に穿設された凹部内に頸部を収納されて同筒151に螺入されていて、その先端部を上記光軸摺動筒148の案内用長孔148b内に嵌入させたガイドピン152と、上記軸受筒151の外周にボールベアリング機構153を介して下部内周面が回転自在に嵌合されていて、上部内周面に螺刻されたヘリコイド雌ねじ154aが上記光軸摺動筒148のヘリコイド雄ねじ148aに螺合され、かつ、上端外周の外向鏝部の外周面に歯車154bが刻設された回転筒154と、この回転筒154の歯車154bに噛合された出力歯車155と、この出力歯車155を出力軸に取り付けたモーター156とで、その主要部が構成されている。

なお、上記対物レンズ147の鏡胴の側周面には、同レンズ147の作動範囲を示す、光吸収体となる指標140が設けられていて、同指標140と対向するように光学センサー150が設けられている。

この光学センサー150は、同センサー150と対向する位置に指標140があるか否かを検出し、指標140が検出されない場合には、対物レンズ147が作動範囲外にあるので、ブザー（図示されず）による警告を発生させたり、対物レンズ駆動用の上記モーター156の回転を停止させたりするようになっている。また、上記モーター156は、外部に設けられたスイッチ部材（図示されず）の操作により、正逆いずれの方向にも回転可能となっている。

上記対物レンズ147は、上記シャーレ転送装置6における1つの載置部材42の直下に位置するように配設されており、第4図に示すように、光軸はその載置部材42の中心軸とほぼ一致するようになっている。以下、この対物レンズ147の真上の載置部材42の位置を、観察位置と呼ぶことにする。従って、観察位置にある載置部材42に載置されたシャーレ4中の培養細胞を、対物レンズ147を通じて下面がわから観察することができるようになっている。

なお、第1、2図中、符号157は接眼レンズを、また第14図中、符号158は対物レンズ147と接眼レンズ157とを光学的に連結するリレー光学系を、それぞれ示している。さらに、特に図示しなかったが、培養室3内が高湿状態に保たれているので、観察装置14の対物部は、各部材の接合部にリング、パッキング等を多用した防湿構造に形成されている。

このように構成された観察装置14の対物部によって、対物レンズ147の焦点合せを行なうには、外部のスイッチ部材を操作してモーター156を時計方向または反時計方向に回転させる。すると、出力歯車155を介して、回転筒154が反時計方向または時計方向に回転され、ピン152と長孔148bとによって回転を規制された光軸摺動筒148が、ヘリコイド雌154aおよび雄ねじ148aの作用により、光軸方向に進退する。よって、接眼レンズ157から透明体のシャーレ4中の培養細胞10を観察しながら、ちょうど焦点の合ったところで上記スイッチ部材を操作してモーター156の回転を停止

させればよい。なお、フォーカシングの方向を誤って、対物レンズ147が作動許容範囲から外れた場合には、光学センサー150が指標140の検出をしなくなるので、警告ないしはモーター156の自動停止が行なわれる。従って、対物レンズ147の対物面がシャーレ4等にあつて、シャーレ4等が破損したり、レンズに傷が付いたりするおそれはない。

一方、観察装置14の照明光源部は、第14図に示すように、防湿構造となっている。外套筒159内に光源ランプ161およびコンデンサーレンズ162を収納した照明装置160で形成されていて、前記天井壁48に穿設された貫通孔に外套筒159を嵌合させ、同筒159の上端部をビス163によって天井壁48に固定されて、培養室3内に垂下するように配設されている。この照明装置160の光軸が、上記対物レンズ147の光軸と一致するようになっていることは云うまでもない。また、上記外套筒159の下端開口部には、円環状の押え部材166と、リング状のバックアップ部材165とを介して防湿

ガラス板164が挟め込まれていて、照明光の出射に支障がないようになっている。さらに、この照明装置160においては、特に図示しなかったが、フィルター等の交換が機械室47がわから行なえるようになっている。培養室3内の雰囲気を変えずに、照明光の調整ができるようになっている。

なお、観察装置14は、照明装置160中に絞りリングを、観察光学系中に位相板を、それぞれ配設していて、位相差顕微鏡としても使用できるようになっている。また、接眼部には、写真撮影用の光学系が付設されるようになっている。シャーレ4を培養室3外に取り出すことなしに同シャーレ4中の培養細胞の写真撮影が行なえるようになっている。

ところで、上記培養室3には、特に図示しなかったが、培養室3内を加温、加湿するための加温・加湿装置、培養室3内を所定温度に保つための予備保温装置、培養室3内の細胞培地のpHを適正値(約7.2)に保つための炭酸ガス・空気供給装置、培養室3内を滅菌する紫外線殺菌装置および

培養室3内の空気の清浄化を行なうためのクリーンエアー送風装置が、それぞれ付設されている。

上記加温・加湿装置は、加温用の水を蓄える水槽と、この水槽中の水を加熱するヒーターと、上記水槽中の水の温度を検出する温度センサーと、この温度センサーの出力に基づいてヒーターへの通電を制御して、水温を一定(例えば、37℃)に保つ温度調節器と、水槽上部の温った空気を培養室3に送り込む送風機と、加温・加湿装置と培養室3を接続する送風パイプとで構成されている。この装置は、注水口よりそそぎ込まれた水を水槽に蓄え、これをヒーターによって加温して、正確に例えば37℃(±0.1℃以内)に保つ。そして、水槽上方の温った暖い空気を送風機によって送風パイプを通じて培養室3内に送り込むと同時に、培養室3内の空気を水槽中に還流させて、培養室3内を加温すると共に加湿する。

上記予備保温装置は、培養室3の内周面部または外周面部にむらなく配設されたヒーターと、このヒーターの温度を検出して、これをコントロー

ルする温度調節器とで構成されていて、培養室3内を周囲より目的温度(例えば37℃)に近く、かつ、これよりも低い温度(例えば35℃)に加温する。このように培養室3をあらかじめ加温しておくことにより、上記加温・加湿装置による培養室3内の空気流にむらがあっても、場所によって温度が大きく相異してくるという不具合を防止することができる。

上記炭酸ガス・空気供給装置は、培養室3内のガス雰囲気中の炭酸ガス濃度を一定にして、細胞培地であるシャーレ4中の培養液のpHを適正値(約7.2)に保つためのものであって、炭酸ガスを封入したボンベと、外部から空気を採り入れるエアーポンプと、ガスの流量を計測するガス流量計と、ガスの流量を制御する電磁バルブと、これらを接続する送気パイプとで構成されている。この装置は、ポンベより適当な圧力でレギュレートされて取り出された炭酸ガスと、空気取入口を通じてエアーポンプにより外部から採り入れられた空気とを、適当な割合(炭酸ガス5%, 空気95%)

に混合し、これを培養室3内へと送り込むようになっている。

上記紫外線殺菌装置は、培養室3内が汚染されているか、もしくは、汚染してしまったときに、紫外線ランプを点灯させ、照射される紫外線によって雑菌類を滅菌するためのものであり、紫外線ランプと同ランプの点滅を制御するための操作スイッチとで構成されている。ところで、紫外線による滅菌方法は、直接紫外線が照射されない所は滅菌されないという欠点を有しているが、本自動培養装置1の場合には、培養室3の内壁面や同室3内に配設される装置類の表面を極力ステンレス等の研磨面とし、これらの鏡面作用により、装置類の裏側へも紫外線が反射されて照射されるようにして、より広範囲に滅菌が行なえるように工夫がなされている。

上記クリーンエア送風装置は、高圧送風器と高性能のフィルターで構成されていて、培養室3内に外部より無菌の風を送り込む（例えば、 $150 \frac{dm}{min}$ 以上）ことによって、培養室3内の乾燥と

その下位には、培養室3内の温度を調整するための温度調節用ノブ169が配設されている。さらに、その下位には、本自動培養装置1の作動を制御するための各種の操作部材171が複数個列設されている。

上記演算処理装置には、シャーレ4の搬入・搬出プログラム、廃液プログラム、給液プログラム、攪拌プログラム、分注プログラム等の各種プログラムがプログラミングされていて、本自動培養装置1はこれらプログラムに基づいて、自動培養に必要とされる一連の動作を制御されるようになっている。即ち、既述した各種装置類に組み込まれたモーターやソレノイドを駆動したり、センサーの出力を読み取ったり、ヒーターへの通電を行ったりして、自動培養装置1が自動的に細胞の継代培養において必要とされる一連の動作を遂行するようになっている。

以上のように、本発明の細胞の自動培養装置1は構成されている。

次に、この自動培養装置1の動作について、本

清浄化とを行なうものである。本装置は、細胞の非培養時に適時作動されて培養室3内をあらかじめ浄化しておくために用いられる。

また、上記培養室3内の前面壁は、同室3内を外部から肉眼で直接観察できるようにガラス張りとなっている。しかし、凝結を防ぐために、さらにその前面を蔽うように開閉自在の外扉が設けられている。この外扉には、ヒーターと湿度センサーとが取り付けられていて、同扉は培養室3内よりやや高い37℃～40℃程度に加熱されている。この加熱により、内側にあるガラス窓の温度が低下するのを防いでいる。

上記制御装置13は、第1図に示すように、筐体2の前面左側部に設けられた表示兼操作パネル167内に組み込まれたマイクロコンピュータ等である演算処理装置や、この演算処理装置に付帯する入出力装置、電源装置等で構成されている。上記表示兼操作パネル167には、その前面上部に液晶表示板等である、培養室3内の温度を表示するための温度表示部168が設けられており、また、

発明の細胞の自動培養方法の一実施例と共に、第16図に示すフローチャートを参照しながら説明する。

まず、自動培養装置1の電源スイッチ（図示されず）を操作して、同装置1を作動状態にすると、加熱・加湿装置、予備保溫装置、炭酸ガス・空気供給装置等が作動して、培養室3内が細胞培養に適当な一定の雰囲気（温度37℃、湿度100％、炭酸ガス濃度5％）に自動的に設定される。

次に、自動培養装置1の培養指令スイッチ（図示されず）を操作すると、搬入・搬出装置5が作動し、各ベルトコンベア23、26、29がシャーレ4の搬入方向に移動して、シャーレ4の搬入工程が開始される。即ち、被培養細胞の入ったシャーレ4をトレイ32上に載置し、搬入・搬出装置5内に送り込めば、同シャーレ4は、ベルトコンベア29、26、23により順次搬送され、培養室3内に移送される。この搬送途中において、ベルトコンベア23がシャッター24の開放に連動して支軸23aの周りを時計方向に一定角度回転し、その内端部

を搬入・搬出位置にある載置部材42の切欠42b内に嵌入させる。よって、シャーレ4はベルトコンベア23の搬送力により載置部材42上に自動的にセットされる。このシャーレ4の載置部材42上へのセットは、搬入・搬出検出用センサーによって検知され、このセンサーの出力に基づいて、搬入・搬出装置5はその作動を停止される。これにより、シャッター24の閉成に連動して、ベルトコンベア23は支軸23aの周りを一定角度反時計方向に回転して、水平位置より傾いた平生位置に復動し、その内端部は載置部材42の切欠42b内から退避する。

搬入・搬出装置5の作動停止に続いて、第4図に示した転送装置6が時計方向(第4図において)に回転され、シャーレ4は搬入・搬出位置から観察位置に移動される。ここで、操作者は観察装置14によって、被培養細胞の入ったシャーレ4が、培養室3内の所定位置にセットされたことを確認する。そして、これが確認された場合には、培養統行指令スイッチを操作する。すると、続いて、培養液の廃液工程が開始される。これはまず、転

の上昇途中において、チップ58の上端面をチップ挿脱管66の下端面に衝合させて、チップ58をその先端部から脱落させる。そして、所定位置まで復動した時点でモーター55の回転が停止されて、排液管51は平生位置に復帰する。排液管51の先端部から脱落した使用済のチップ58は、図示しないガイド手段を通じて培養室3外に取り出され、筐体2の底部寄りに配設されたチップ保存槽内に収納されて、後ほど廃棄される。この後、再び蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが閉成される。

続いて、洗浄液の注入工程が開始される。これはまず、転送装置6が反時計方向(第4図において)に回転され、シャーレ4が廃液位置から給液位置に移動される。次に、給液位置に対応する蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが開放される。続いて、第2図に示したローラーポンプ74bが作動され、洗浄液が収納容器72b内からローラーポンプ74b、加温器75b、給液チューブ76bを通じて、一定量(例えば3cc)だけシャー

レ4内に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。この洗浄工程が、被培養細胞に付着した古い培養液を洗い流して、後の酵素処理工程において、酵素が有効に作用し得るようになるために行なわれることは前述の通りである。

次に、上記洗浄液注入工程でシャーレ4内に注入された洗浄液をシャーレ4外に排出するための、洗浄後の廃液工程が行なわれる。これはまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が給液位置から廃液位置に移動される。そして、これ以降は、既述した培養液の廃液工程と全く同様にして、洗浄液のシャーレ4内からの排出が行なわれる。

そして洗浄液の廃液工程の終了した後は、酵素液の注入工程が開始される。この工程はまず、第4図に示した転送装置6が反時計方向に回転されて、シャーレ4が廃液位置から給液位置に移動され、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが開放される。次に、第2図に示したローラー

ポンプ74cが作動され、酵素液が収納容器72c内からローラーポンプ74c、加温器75c、給液チューブ76cを通じて、一定量(例えば3cc)だけシャーレ4内に供給される。続いて、蓋開閉装置78が再び作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成され、シャーレ4は載置部材42上で約1分間静置される。この静置は、シャーレ4の底面に着床した被培養細胞に酵素液中の酵素(例えばトリプシン)を充分に作用させて、被培養細胞を生育面であるシャーレ4の底面から確実に遊離させるために行なわれる。次に、上記酵素液の注入工程でシャーレ4内に注入された酵素液の廃液工程が行なわれる。この廃液工程は、上記洗浄液の廃液工程と全く同様に行なわれるので、その詳しい説明を茲に省略する。そして、この酵素液の廃液工程完了後は、シャーレ4は約10分間ほど載置部材42上で静置される。このシャーレ4の静置は、被培養細胞に残留付着した酵素液によって、細胞と生育面との遊離を促進すると共に、各細胞間の結合をも弱めて、被培養細胞間の単個化を促すために行な

が作動される。これにより、収納容器72a内からローラーポンプ74a、加温器75a、給液チューブ76aを通じて、培養液が一定量(例えば3cc)だけシャーレ4内に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。

続いて、培養液の攪拌工程が行なわれる。これはまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が給液位置から分注位置まで移動される。一方、これと同時に、第10～12図に示したビベット供給装置95が作動され、ビベット97がビベット受け部材122に供給されて保持される。そして、分注装置11(第9, 11, 12図参照)の回転撹動軸101が反時計方向に回転され、ペローズポンプ98が分注位置からビベット受け位置まで移動される。続いて、回転撹動軸101が降下され、ペローズポンプ98の吸引端98aがビベット97の上端開口に嵌合して、ビベット97がペローズポンプ98に装着される。そして、カムレバー132が回転軸131を中心として反時計方向に回転

される。

上記シャーレ4の静置が終了すると、次に、細胞の剥離工程が行なわれる。この工程はまず、第4図に示した転送装置6が時計方向に回転され、シャーレ4が廃液位置から剥離位置まで移動される。続いて、第8図に示した剥離装置9のソレノイド91に断続的に1分間ほど通電が行なわれ、叩打部材93が連続的にシャーレ4または蓋4aの側面を叩いてシャーレ4に横方向の振動を加えることによって行なわれる。この振動が加えられると、シャーレ4の底面より遊離状態にある被培養細胞は横方向のずれ力を受け、そのずれ力に基づく自らの慣性等により底面から確実に剥離される。

次に、上記剥離工程の終了後、剥離された細胞を単個化するために、まず培養液の注入工程が行なわれる。この工程は初めに、第4図に示した転送装置6が反時計方向に回転され、シャーレ4が剥離位置から給液位置まで移動される。次に、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが開放され、次で第2図に示したローラーポンプ74a

されて一時的にビベット97との係合位置から退避されると、こんどは回転撹動軸101が上方に向けて移動され、続いて時計方向に回転されて、ビベット97を装着するペローズポンプ98がビベット受け位置から分注位置まで復動される。次に、分注位置に対応する蓋開閉装置78が作動され、シャーレ4の蓋4aが開放される。続いて、回転撹動軸101が再び降下され、ビベット97の先端部が分注位置にあるシャーレ4内に嵌入され、同シャーレ4を押圧して若干傾けた状態で、その降下が停止される。次に、ペローズポンプ98が吸引作動され、シャーレ4中の培養液が一定量(例えば、3cc)だけビベット97内に吸引される。このため、シャーレ4内で剥離状態にあった被培養細胞は、ビベット97の細い吸引口を通過する際に、相互に分離されて更に単個化されながらビベット97内に培養液と一緒に吸引される。この培養液の吸引後、回転撹動軸101が再び上昇され、ビベット97が高い位置にある状態でペローズポンプ98が排出方向に作動され、ビベット97内の培養液は被培養細胞と

一緒に、シャーレ4内に再び排出される。このため、被培養細胞は更に単個化される。上記ビベット97による培養液の吸引・排出は、10回繰り返えされ、培養液が十分に攪拌されて被培養細胞が完全に単個化される。

上記攪拌工程に続いて、培養液の分注工程が行なわれる。この工程はまず、上記回転撹動軸101が降下されて、シャーレ4中の単個化された被培養細胞を含む培養液が、ペローズポンプ98の吸引動作により、一定量（例えば、3cc）だけ、ビベット97内に吸引される。続いて、蓋開閉装置78が作動されて、シャーレ4の蓋4aが閉成される。また、これと同時に、第13図に示したシャーレ供給装置12が作動され、シャーレ供給位置にある載置部材42上に新しいシャーレ4が1つ供給されてセットされる（以下、この新しいシャーレ4を、第1のシャーレ4と称す）。続いて、第4図に示した転送装置6がシャーレ転送部37の1つ分だけ時計方向に回転され、再びシャーレ供給装置12が作動されて、シャーレ供給位置にある載置部材42上

にもう1つの新しいシャーレ4が供給されてセットされる（以下、この新しいシャーレ4を、第2のシャーレ4と称す）。即ち、相隣り合った載置部材42上に、2つの新しいシャーレ4が取り出されてセットされる。次に、転送装置6が時計方向に回転され、第1のシャーレ4が分注位置まで移動される。そして、蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが開放され、この後、ペローズポンプ98の排出動作が行なわれ、ビベット97内の単個化された被培養細胞を含む培養液が半分（例えば、1.5cc）だけ、第1のシャーレ4内に排出される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが閉成される。続いて、転送装置6が時計方向にシャーレ転送部37の1つ分だけ回転され、第2のシャーレ4が分注位置まで移動される。しかる後に、蓋開閉装置78が作動され、第2のシャーレ4の蓋4aが開放されて、ペローズポンプ98が再び排出動作を行ない、ビベット97内の単個化された被培養細胞を含む培養液の残余の半分が、第2のシャーレ4内

に排出される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第2のシャーレ4の蓋4aが閉成される。

このようにして第1および第2のシャーレ4中に入れられた培養液は、所定量の半分程度しかなく、このままでは細胞の培養には充分でないので、足りない分の培養液を第1および第2のシャーレ中に補充する培養液の補注工程が次に行なわれる。この補注工程はまず、第4図に示した転送装置6を反時計方向に回転させ、第2のシャーレ4を分注位置から給液位置まで移動させる。次に、蓋開閉装置78が作動して第2のシャーレ4の蓋4aが開放された後、第2図に示したローラーポンプ74aが作動され、収納容器72aからローラーポンプ74a、加温器75a、給液チューブ76aを通じて培養液が不足分（例えば、2cc）だけ、第2のシャーレ4中に供給される。そして、再び蓋開閉装置78が作動されて、第2のシャーレ4の蓋4aが閉成される。続いて、第4図に示した転送装置6が再び反時計方向にシャーレ載置部37の1つ分だけ回転されて、第1のシャーレ4が給液位置まで移

動される。この後、蓋開閉装置78が作動されて第1のシャーレ4の蓋4aが開放され、第2図に示したローラーポンプ74aが作動されて、第1のシャーレ4中にも不足分（例えば、2cc）の培養液が供給される。そして、蓋開閉装置78が作動されて、第1のシャーレ4の蓋4aが閉成される。

上記培養液の補注工程が終了した後、分注装置11（第9、11、12図参照）に装着されたままになっている使用済のビベット97の廃棄工程が行なわれる。即ち、回転撹動軸101が反時計方向に回転され、ペローズポンプ98がビベット受け位置に向けて回動される。このため、ペローズポンプ98は、ストッパーピン134に係合するビベット離脱位置に復動しているカムレバー132の先端位置まで移動し、吸引端98aを楔型カム部132a、132b間に嵌人させると共に、銚部98cとビベット97との間に両カム部132a、132bの先端部をそれぞれ嵌入させ、ビベット97を吸引端98aより引き離す。よって、ビベット97は、自重により、吸引端98aより脱落し、図示しないガイド手段を通じて、培養室3外

に取り出されて、筐体2の底部寄りに配設されたビベット保存槽に収納される。回転搬送軸101は、ベローズポンプ98を一旦ビベット受け位置まで回転させた後、反転されて、再びベローズポンプ98を分注位置まで復動させて停止する。

続いて、単個化した培養細胞を含む培養液を取り出した後の、使用済の古いシャーレ4を、自動培養装置1外に取り出すためのシャーレ4の廃棄工程が行なわれる。この工程はまず、第4図に示した搬送装置6が回転され、古いシャーレ4が搬入・搬出位置まで移動される。次に、搬入・搬出装置5が作動され、各ベルトコンベア23、26、29が搬出方向に移動されて、シャーレ4の搬出が開始される。即ち、シャッター24を開放すると、これに連動してベルトコンベア23が支軸23aの周りを時計方向に回転され、内端部が搬入・搬出位置にある載置部材42の切欠42b内に嵌入されて、この載置部材42上に載置された古いシャーレ4は、係合爪23bの作用と、コンベア23との搬送力により、コンベア23上に載せられる。そしてベルト

コンベア23、26、29上を順次搬送され、コンベア29の搬送力により、トレー32上に送り出される。よって、このシャーレ4をトレー32上から手作業で取り上げて、これを廃棄すればよい。

そして、以上のようにして、上記第1および第2のシャーレ4中に作成された次世代の培養系の細胞は、その培養が開始される。この培養工程は、一定の雰囲気中に保たれた培養室3中で、第1および第2のシャーレ4を長時間（例えば、3日間）に亘り静置することによって行なわれる。第1および第2のシャーレ4中に単個化されて浮遊状態にある被培養細胞は、シャーレ4が静置されることによって、培養液中を沈降し、シャーレ4の底面壁に着床して、これを生育面として細胞分裂による増殖を開始する。この際、培養液は豊富な栄養源を含み、かつ、増殖に最適な温度およびpHに保たれているので、被培養細胞は確実に増殖を行なう。

増殖に必要な所定時間が経過したならば、自動培養装置1に設けられた転送指令スイッチ（図示

されず）を操作して、搬送装置6を回転させ、第1のシャーレ4を観察位置まで移動させる。そして、観察装置14により、第1のシャーレ4内の細胞の増殖状態を観察する。また、同様にして、第2のシャーレ4内の細胞の増殖状態を観察する。この第1および第2のシャーレ4中の細胞の観察により、増殖状態が充分でなく、増殖を続行する場合には、そのまま第1および第2のシャーレ4を静置する。また、所定の増殖状態が得られ、この増殖した細胞を被培養細胞として更に次世代の培養系を作成して継代培養を行ないたい場合には、培養続行指令スイッチを操作する。すると、第16図に示すように、第1および第2のシャーレ4に対して、再び、培養液の廃液工程からシャーレ4の廃棄工程までが行なわれ、更に次世代の細胞の培養系が作成されて、細胞の第3世代の培養が行なわれる。

そして、第1および第2のシャーレ4中の細胞の観察により、それ以上の培養が必要ないと判断された場合には、第1および第2のシャーレ4の

搬出工程が行なわれる。この搬出工程は、上記シャーレ4の廃棄工程と同様に、第1および第2のシャーレ4を搬送装置6を回転して順次搬入・搬出位置まで移動させ、搬入・搬出装置5を2回作動させることによって行なわれる。搬出された第1および第2のシャーレ4は、順次トレー32上に送り出されてくるので、これらシャーレ4を手作業で取り上げ、シャーレ内で生育した細胞を所望の目的、例えば実験等に使用すればよい。

以上述べたように、本発明の方法および装置によれば、細胞培養の全工程を1つの培養室内で連続して行なえるようにしたことにより、恒常的に培養条件を保つことができ、環境が見られることがないので、安定した培養細胞を常時得ることができる。

また、培養室と外部との接触部位に、無菌的に閉閉を行なえるシャッター機構やフィルター機構を設けたことにより、培養細胞が雑菌やウイルス等により汚染される危険性が少ない。

さらに、廃液装置や分注装置に、チップやビベ

ットの供給機構および廃棄機構を設けたことにより、シャーレ相互間の汚染が防止される。

さらにまた、培養液、酵素液等を使用時まで低温保存するようにしたので、薬剤や酵素が不活化しないと共に、何度も取り替える必要性がなくなり、汚染のおそれも少なくなる。

また、剝離機構、攪拌機構を簡易にしたことにより、細胞の損傷を少なくし、高い収率で細胞を回収することができる。

さらに、培養液の分注、攪拌、剝離等の操作を機械的に行なうことにより、人手によるよりも正確で、いつも均一な操作を行なうことができると共に、操作内容を随意に調節して変更することができる。

さらにまた、細胞培養の基本操作であるところの継代培養操作を汚染なく、安定して行なえる結果、培養細胞を用いた実験の信頼性が向上する、薬液注入器等の付属装置を配設することにより、様々な培養実験への応用が可能である、バイオヘザードのおそれの少ない安全性の高い実験を行な

うことができる、等の効果も得られる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養装置の正面要部断面図、

第2図は、上記第1図に示した自動培養装置の機械室の平面図、

第3図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された搬入・搬出装置の断面図、

第4図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された転送装置の平面図、

第5図は、上記第4図に示した転送装置におけるシャーレ転送部の斜視図、

第6図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された廃液装置の要部断面図、

第7図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された蓋閉閉装置の要部斜視図、

第8図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された剝離装置の側面図、

第9図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された分注装置の要部断面図、

第10図は、上記第9図に示した分注装置に付設されたピペット供給装置の平面図、

第11図は、上記第9図に示した分注装置と、ピペット離脱装置との配置関係を示す要部斜視図、

第12図は、上記第9図に示した分注装置におけるペローズポンプの回転軌跡と、上記第10図に示したピペット供給装置のピペット受け部材および上記第11図に示したピペット離脱装置のカムレバーとの位置関係を示す要部平面図、

第13図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設されたシャーレ供給装置の平面図、

第14図は、上記第1図に示した自動培養装置に配設された観察装置の断面図、

第15図は、上記第14図に示した観察装置における対物レンズの駆動機構を示す要部拡大斜視図、

第16図は、本発明の一実施例を示す細胞の自動培養方法の順次の工程を示すフローチャートである。

1 自動培養装置

3 培養室

4 シャーレ（培養容器）

5 搬入・搬出装置

6 転送装置

7 廃液装置

8 給液装置、

9 剝離装置

11 分注装置

12 シャーレ供給装置

13 制御装置

14 観察装置

78 蓋閉閉装置

95 ピペット供給装置

96 ピペット離脱装置

特許出願人

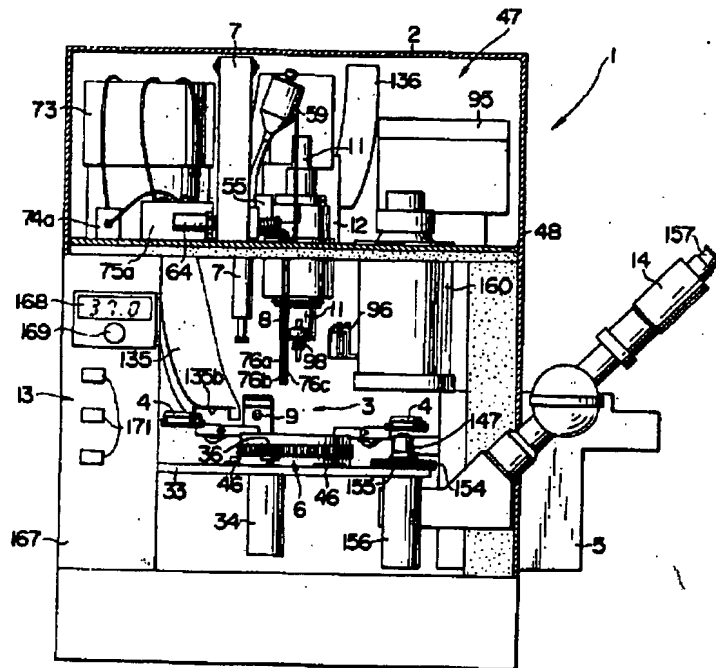
オリンパス光学工業株式会社

代理人

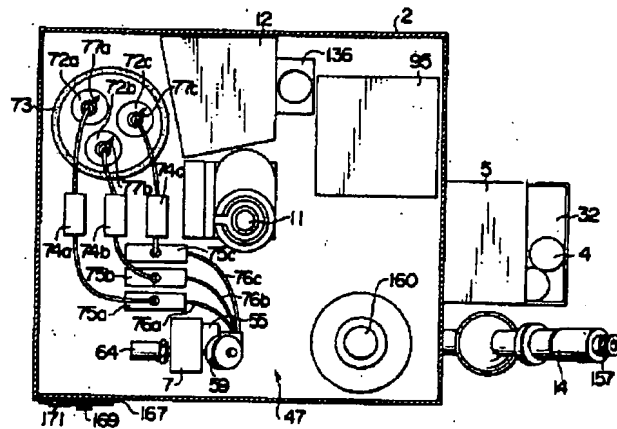
藤川七郎

印

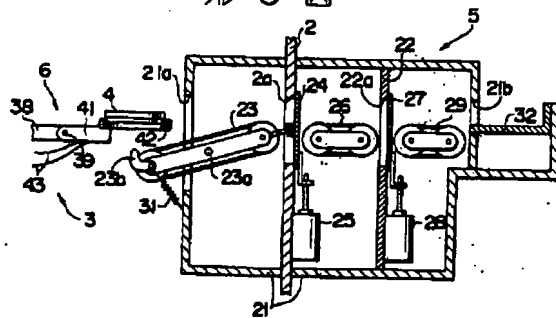
第 1 図



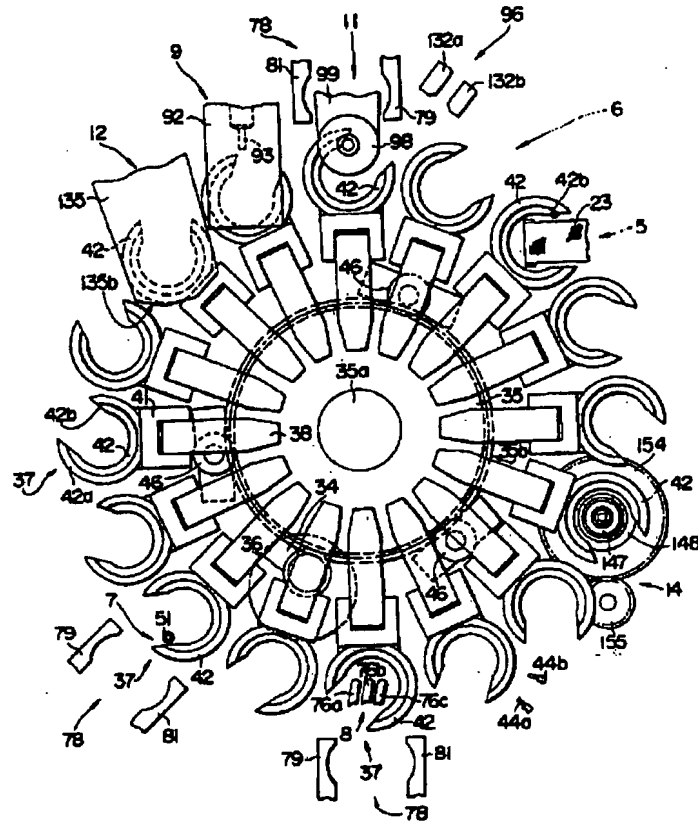
第 2 図



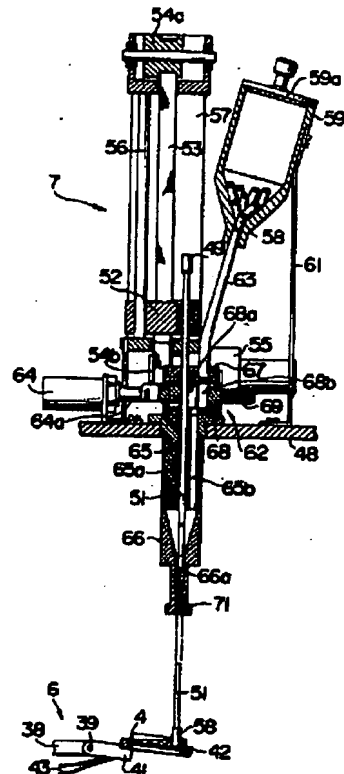
第 3 図



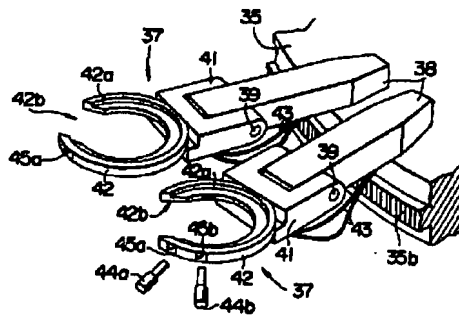
第 4 圖



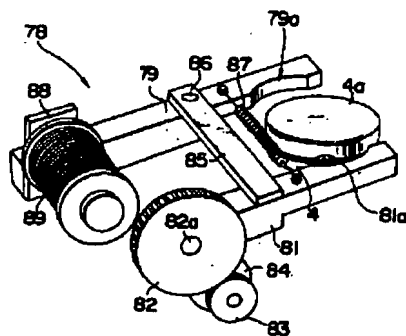
第 6 圖



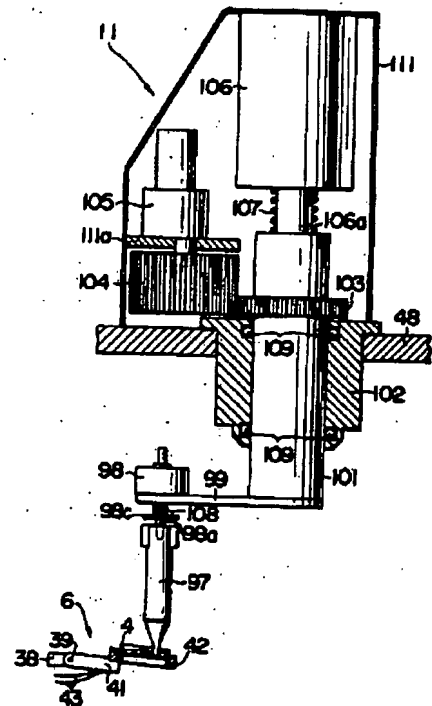
第 5 圖



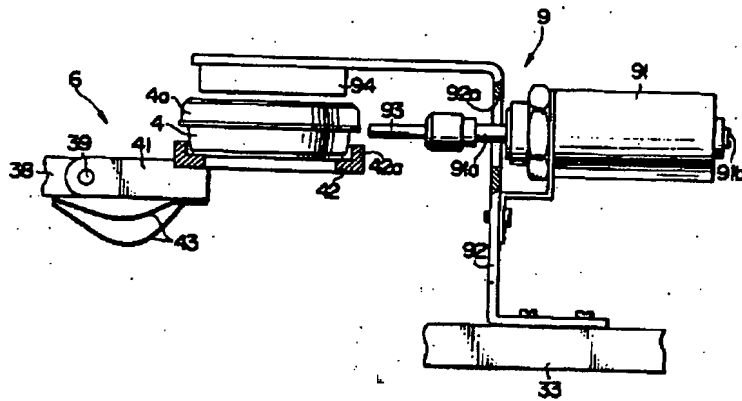
第 7 圖



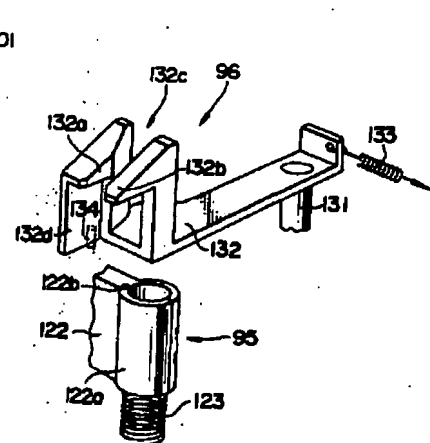
第 9 図



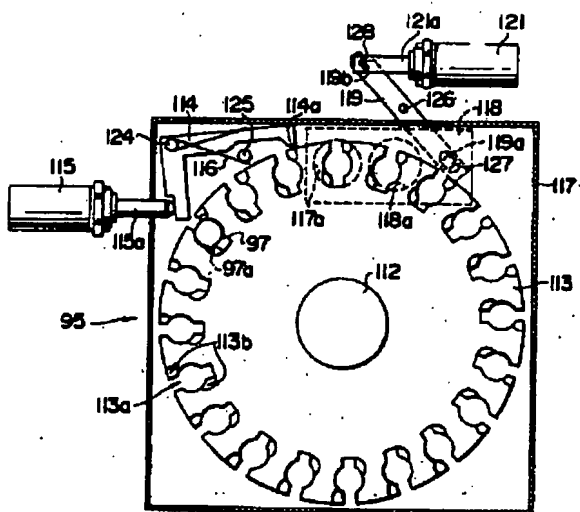
第 8 図



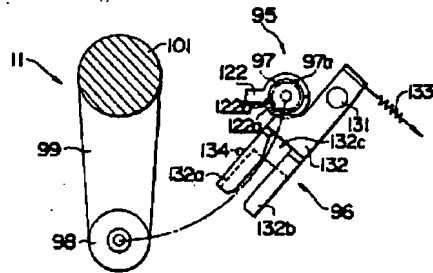
第 11 図



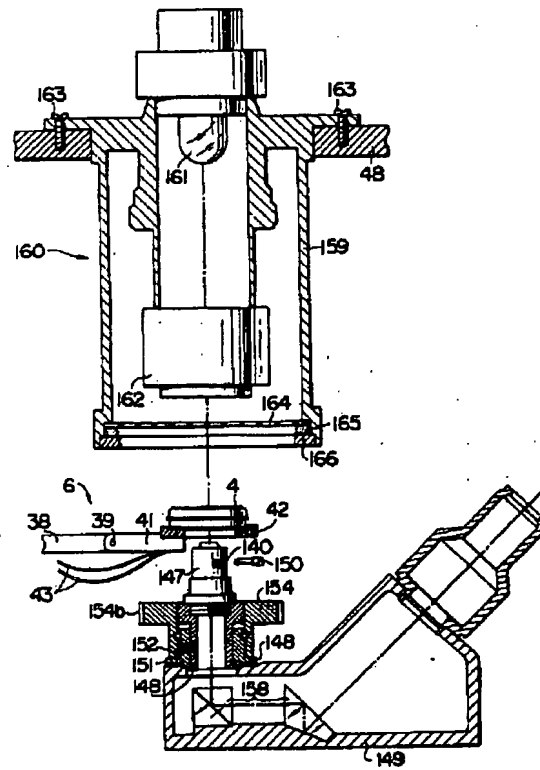
第 10 図



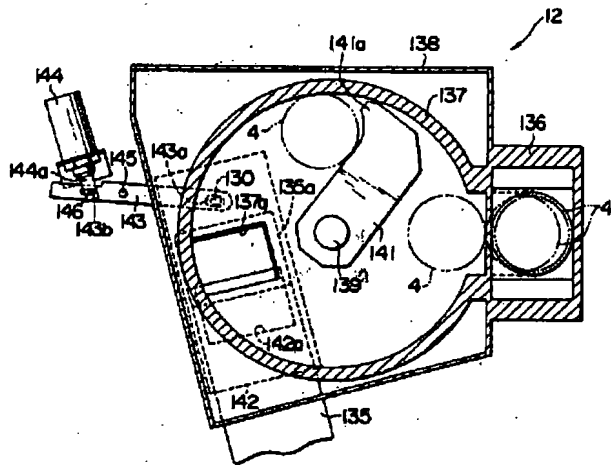
第12図



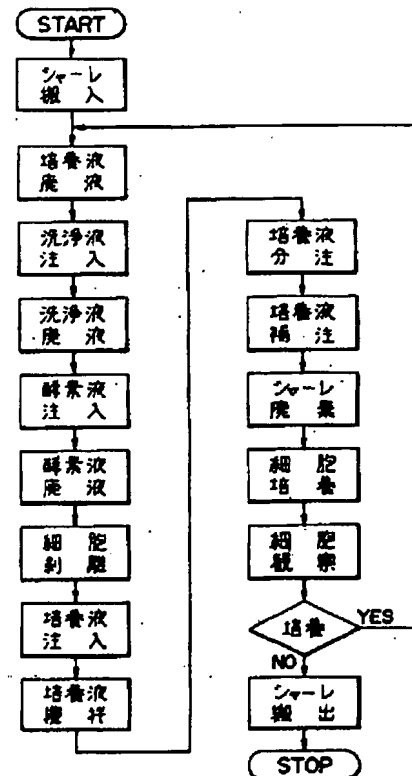
第14図



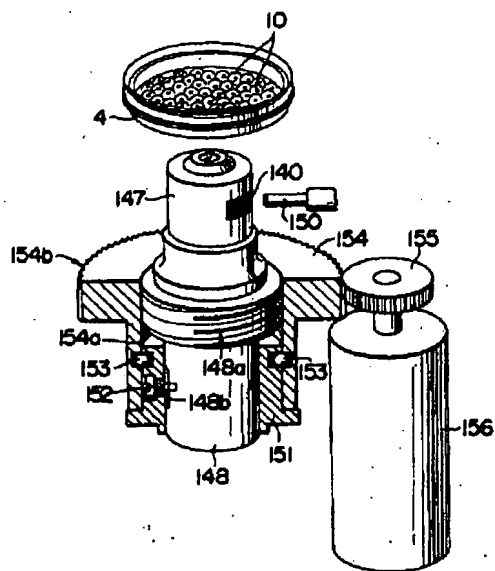
第13図



第16図



第15図




CERTIFICATE OF TRANSLATED CONTENTS

Dated: 12th April 2007

We, the undersigned, hereby certify that the documents attached are the original manuscript text of the following as well as a matching translation of the relevant text faithfully rendered into < English >.

Text details:	特開昭 58-155087 <Total pages: 26>
----------------------	--

Translation details:	Japanese Patent Publication Number SHO 58-155087 <Total pages: 71>
-----------------------------	---



Kenji Kusumi
General Manager Osaka Sales Division
HONYAKU CENTER INC.
2-5-8 Hirano-machi, Chuo-ku,
Osaka 541-0046, JAPAN

Specification

1. Title of the invention

METHOD FOR AUTOMATICALLY CULTURING CELLS AND DEVICE USED THEREFOR

3. Detailed description of the invention

The present invention relates to a method for automatically culturing cells and a device used therefor, and further specifically relates to a method for automatically subculturing cells in a culture chamber maintained in a constant atmosphere, and a culture device used therefor.

As is publicly known, techniques for culturing biotissues and cells are basic experimental techniques essential for performing studies at cell level in every field such as medicine, biology, pharmacy, and agriculture. However, it is technically difficult to obtain a stable cell line by subculturing biotissues and cells. Conventionally, this has been performed through the steps sequentially as will be described below.

First, a prescribed number of cultured cells isolated are stored in a culture vessel such as a petri dish and a square bottle for culture, and are diluted by injection of culture fluid. Then, the cultured cells are set in a suspension state in the culture fluid. Therefore, this culture vessel stands in a culture chamber maintained in a prescribed atmosphere (for example, temperature: 37°C, humidity: 100%, carbon dioxide gas concentration: 5%), to proliferate the cells. After elapse of

a prescribed period, the culture vessel is taken out from the culture chamber, and a culture state of the cells is observed by observing means such as a microscope. Then, when a required amount of the cells is confirmed to be proliferated, a culture system of the second-generation is prepared by an aseptic operation in a clean bench, etc., in an aseptic state.

In this operation, first, the culture fluid in the culture vessel is sucked by a pipette, etc., and is discarded. Next, the cells remained in the culture vessel are washed with cleaning fluid to be injected, such as a phosphate buffer solution, etc., and thereafter, the cleaning fluid is sucked by the pipette, etc., and is discarded. In this cleaning step, the old culture fluid is rinsed off so that enzyme can effectively exhibit a function in an enzyme processing step as will be described next. Subsequently, in order to liberate the cells, which have been implanted in the bottom of the culture vessel and proliferated, from the aforementioned bottom, being a growing face, an enzyme solution containing a proteolytic enzyme such as trypsin is injected into the culture vessel, and the enzyme acts on the cells for a constant time. Then, after sucking and discarding the enzyme solution by the pipette, etc., new culture fluid is injected into the culture vessel, and is then sucked and discarded by the pipette, etc. By repeating this process a plurality of times, the culture fluid is stirred. Liberated cells are isolated and resuspended in the culture fluid. Then, the culture

fluid containing a plurality of cells thus isolated and resuspended is divided into a prescribed amount and injected into a plurality of new culture vessels. Further, insufficient culture fluid is complementarily injected, and then preparation of a culture system of the second-generation is completed.

Next, the aforementioned plurality of culture vessels, in which the cultured cells to be subjected to a second-generation culture are stored, are moved into the culture chamber maintained in a prescribed atmosphere again, to proliferate the cells, thus continuing the culture.

In this way, conventionally, the subculture of bio tissues and cells are performed. However, this subculture method is a manual method, and therefore involves various problems. Namely, every time sequential operation in the culture step is performed, the culture vessel must be taken out from the culture chamber. At this time, since the cells are affected by the change of an environmental condition, there is a problem that a proliferation state and lifetime, etc., are changed. In addition, there is a problem that the cells are contaminated, killed and metamorphosed by intrusion of bacteria. Further, there is a problem that when, since a manual work is different depending on a culture technician, the cells are variously affected by this difference, a proliferation state, lifetime, and configuration of the cells are changed, and a standardized culture under a constant condition cannot be performed. Further

there is a problem that when the cultured cells are pathogenic microbes, there is a risk of biohazard (biological contamination), thus involving a safety risk.

In order to solve the above-described various problems, an object of the present invention is to provide a method for automatically culturing cells, so that a culture system of the second-generation is automatically prepared in a culture chamber maintained in a constant atmosphere and subculture of the cells is continuously performed under a constant condition, as well as an apparatus used therefor.

According to the present invention, all steps required for the subculture of the cells in the culture chamber can be automatically continuously performed. Therefore, an adverse affect on the cultured cell by the change of an environmental condition can be removed, and an accident such as an intrusion of bacteria can be effectively prevented.

Further, by automating each kind of operation in the culture step, standardization and unionization of each kind of operation can be realized, thus making it possible to stably obtain uniform cultured cells.

Further, since there is almost no risk of leaking the cultured cells outside the culture chamber, there is almost no risk of biohazard, thus making it possible to perform the culture with high degree of safety.

Thus, it is possible to provide a method for automatically

culturing cells and a device used therefor, in which the above-described problems are excellently solved and a remarkable effect is exhibited.

The method and the device of the present invention will be explained hereunder, based on an embodiment as shown in the drawings.

FIG.1 shows an automatic culture device for cells showing an embodiment of the present invention. This automatic culture device 1 is constituted in such a way that in the center of a rectangular prism-shaped case 2 forming an exterior frame of the device 1, a culture chamber 3 maintained in a constant atmosphere (for example, temperature: 37°C, humidity: 100%, carbon dioxide gas concentration: 5%) is provided, and various kinds of devices are attached to apply each kind of operation to a petri dish 4, being a culture vessel stored in this culture chamber 3. Namely, a main essential part of this automatic culture device 1 includes the culture chamber 3; a carrying-in/carrying-out device 5 for automatically carrying-in and carrying-out the aforementioned petri dish 4 to/from this culture chamber 3; a transfer device 6 for transferring the carried-in petri dish 4 to each prescribed position of operation; a fluid draining device 7 for sucking and removing unnecessary fluid from inside the petri dish 4; a fluid feeding device 8 for feeding necessary fluid for culture into the petri dish 4; a peel-off device 9 for peeling-off the

cultured cells from a growing face by adding vibration to the petri dish 4; a dispensing device 11 for stirring the fluid in the petri dish 4 and dispensing it in another new petri dish 4; a petri dish supplying device 12 for supplying a new petri dish 4; a control device 13 for automatically controlling an operation of the aforementioned each kind of device; and an observation device 14 for observing the cultured cells in the aforementioned petri dish 4 from outside.

As shown in FIG.1 and FIG.2, the aforementioned carrying-in/carrying-out device 5 is provided in the vicinity of an almost center position on the right sidewall of the case 2 so as to communicate with outside of the culture chamber 3, and inside of a housing 21 of the device 5 is divided into three chambers such as an inner chamber, an intermediate chamber, and an outer chamber by the right sidewall of the case 2 and an intermediate wall 22 formed in the housing 21. A belt conveyor 23 with a center rotatably axially supported by a support shaft 23a is arranged in the inner chamber, a shutter 24 and a solenoid 25 for opening and closing this shutter, and a belt conveyor 26 are arranged in the intermediate chamber, and further a shutter 27 and a solenoid 28 for opening and closing this shutter and a belt conveyor 29 are arranged in the outer chamber, respectively.

An inner end portion of the aforementioned belt conveyor 23 extends into the culture chamber 3 through an opening 21a

bored on an external wall of the inner chamber of the housing 21, having a behavior of turning counterclockwise around the support shaft 23a by an extensible coil spring 31 laid over the inner end portion and the housing 21. Turning of the conveyor 23 by this behavior is regulated by stop of the shutter 24 connected to the outer end portion of the conveyor 23 at a position where the opening 2a bored on the right sidewall of the case 2 is opened. At this regulating position, the inner end portion of the conveyor 23 is adapted to correspond to a lower site of a placement member 42 of the transfer device 6 as will be described later in detail. The position of the placement member 42 corresponding to the inner end portion of the conveyor 23 is called a carrying-in/carrying-out position hereafter. This conveyor 23 is adapted to turn clockwise against an elastic force of a spring 31 when the aforementioned shutter 24 is opened, transfer the petri dish 4 transferred from the conveyor 26 of the aforementioned intermediate chamber by its transfer force and place it on the transfer device 6, hook the petri dish 4 by an engagement claw 23b provided on the inner end portion and place it on the conveyor 23, and carry-out it toward the belt conveyor 26 of the aforementioned intermediate chamber. The aforementioned shutter 24 in the intermediate chamber is slidably disposed so as to air-tightly open and close the aforementioned opening 2a, and is opened and closed by the solenoid 25. Then, the aforementioned belt conveyor 26 is arranged at a height

position corresponding to the aforementioned opening 2a. In addition, the aforementioned shutter 27 in the outer chamber is slidably disposed so as to air-tightly open and close the opening 22a bored on the intermediate wall 22, and is opened and closed by the solenoid 28. Thus, the intermediate chamber is freely opened and closed air-tightly by both of the shutters 24 and 27, serving as a buffer chamber not allowing the culture chamber 3 and outside to be directly communicated with each other. By providing this intermediate chamber, rapid change of an environmental condition in the culture chamber 3 can be prevented, and the intrusion of bacteria, etc., from the outside into the culture chamber 3 can be prevented. Then, the aforementioned belt conveyor 29 is arranged at the height position corresponding to the aforementioned opening 22a, and the outer end portion of this conveyor 29 corresponds to a tray 32 exposed to the outside through the opening 21b bored on the external wall of the outer chamber of the housing 21.

According to the carrying-in/carrying-out device 5 thus constituted, each driving roller of each belt conveyor 23, 26, 29 is turned counterclockwise when the petri dish 4 is carried-in, and the solenoids 28 and 25 are timely energized to open the shutters 27 and 24. Then, the petri dish 4 sent from the tray 32 is sequentially transferred by the conveyors 29, 26, and 23, and by this transfer force, the petri dish 4 is automatically placed on the transfer device 6. In addition, when the petri

dish 4 is carried-out, each driving roller of each belt conveyor 23, 26, 29 is turned clockwise, and the solenoids 25 and 28 are timely energized to open and close the shutters 24 and 27. Then, the petri dish 4 on the transfer device 6 is hooked by the engagement claw 23b, placed on the conveyor 23, then sequentially transferred by the conveyors 23, 26, and 29, and taken out on the tray 32. Note that as will be described later in detail, a cutout 42b, into which the inner end portion of the belt conveyor 23 is fitted, is provided in the placement member 42 of the transfer device 6, thus making it impossible for the turning of the belt conveyor 23 to be interrupted by the placement member 42 (see FIG. 4).

As shown in FIG. 1, the aforementioned transfer device 6 is constituted of a rotation table disposed on a substrate 33 provided in the culture chamber 3, and is rotatably driven by a motor 34. Namely, as shown in FIG. 4, an essential main part of the transfer device 6 is constituted of a rotary disc 35 rotatably supported by a support shaft 35a erected on the aforementioned substrate 33; the aforementioned motor 34 for rotating this disc 35 by making an output gear 36 engage with a gear 35b engraved on an outer peripheral surface of this rotary disc 35; a plurality of petri dish placement parts 37 disposed at an equal interval, with each base part fixed to a peripheral edge portion of the rotary disc 35; and optical sensors 44a and 44b for detecting a turning position and an initial position

for performing detection of a moving position of these petri dish placement parts 37.

The aforementioned petri dish placement parts 37 are constituted of, as essential parts thereof are shown in FIG.5, arm-shaped support members 38 with bases fixed to the aforementioned rotary disc 35; sliding members 41 having a C-shape in plan view, slidably attached to the tip end portions of these support members 38 by support shafts 39; partially cutout annular placement members 42, fixed to the tip end portion of these sliding members 41; double plate members 43, with one end fixed to a lower surface of the support member 38 and the other end fixed to a lower surface of the sliding members 41; and optical reflection members 45a and 45b for detecting the turning position and the initial position, attached to the outer peripheral surface closer to the tip end portions of the placement members 42. Note that the optical reflection member 45b for detecting the initial position is provided only in one of the plurality of petri dish placement parts 37. The aforementioned sliding member 41 is slidably pivoted on the support shaft 39, with the tip end portion of the support member 38 fitted into a U-shaped recessed portion, and by the elastic force of the aforementioned plate spring member 43, receives an urging force so as to turn the sliding member 41, with the tip end portion directed upward. The turning of the sliding member 41 by this urging force is normally regulated at a position capable of maintaining the

placement member 42 in a horizontal state by a regulating means not shown. The plate member 43 has a double structure to have durability and pliability whereby an elastic force is not deteriorated even if being used for a long period of time. The aforementioned placement member 42 is provided with a protruding edge 42a having an inner diameter slightly larger than an outer diameter of a bottom surface wall of the petri dish 4, in the outer peripheral part of an upper surface, so that the petri dish 4 does not easily drop during transferring the petri dish 4 placed on the placement member 42. In addition, a partially cutout part is formed, so that the inner end portion of the belt conveyor 23 of the above-described carrying-in/carrying-out device 5 is fitted into this cutout part, thus placing and detaching the petri dish 4, and is formed of a cutout part 42b inclined at a constant angle to a longitudinal direction of the placement part 37.

The aforementioned optical sensors 44a and 44b are disposed at the height position capable of facing the aforementioned optical reflection members 45a and 45b, whereby light emitted from the optical sensors themselves is reflected by the optical reflection members 45a and 45b, then the optical sensors 44a and 44b receives this light and performs positional detection of the petri dish placement part 37. Both of the optical sensors 44a and 44b are connected to the aforementioned control device 13, and control a rotation of the motor 34 based on an output

of both of the optical sensors 44a and 44b, and move the petri dish placement 37 to an appropriate position.

Note that in FIG.1 and FIG.4, a reference numeral 46 indicates three guide rollers that are in a pressure-contact with three equally divided positions on the outer peripheral surface of the rotary disc 35, for smoothly regulating the rotation of the disc 35.

As shown in FIG.1, the aforementioned fluid draining device 7 is constituted in such a way that a main body part is housed in a machine chamber 47 provided at an upper site of the culture chamber 3 in the case 2, and a lower part extends into the culture chamber 3 through a ceiling wall 48 of the culture chamber 3. As shown in FIG.6, a main essential part of this fluid draining device 7 is constituted of a fluid draining pipe 51, with upper base end portion fitted to one end of a fluid draining tube 49 connected to an suction pump not shown; a support member 52 for fixing a part closer to the aforementioned upper base end portion and holding this pipe 51; a driving belt 53 for fixing this support member 52 to a part of an inner surface; a pair of upper and lower pulleys 54a and 54b laid over this driving belt 53; a motor 55, with lower site pulley 54b attached to an output shaft; a guide bar 56 inserted into a guide hole bored on the support member 52, for regulating the movement of this member 52 in a vertical direction; a support plate 57 for supporting the pulleys 54a and 54b and the guide bar 56, etc.; a chip storage unit 59

for storing a chip 58 formed of a short cylindrical tube, being a tip end suction nozzle of the fluid draining pipe 51; a storage unit support plate 61 for supporting this chip storage unit 59; a chip supply control device 62 for controlling the supply of the chip 58; a chip guide tube 63 for connecting the chip storage unit 59 and the chip supply control device 62; a solenoid 64 for driving the chip supply control device 62; a guide pipe 65 vertically passing through the ceiling wall 48 of the culture chamber 3, with an upper end outward protruding edge fixed to this wall 48; and a chip insertion/removal pipe 66 attached to the lower end portion of this guide pipe 65. The chip storage unit 59, the chip supply control device 62, and the chip insertion/removal pipe 66, etc., are provided in this fluid draining device 7. When draining is performed, with the lower tip end portion of the fluid draining pipe 51 directly immersed into the fluid in the petri dish 4, this tip end portion is directly immersed into a different petri dish 4, and therefore mutual contamination between petri dishes 4 occurs. Accordingly, the chip 58 is mounted on the tip end of the fluid draining pipe 51 and is exchanged for every draining fluid operation.

The aforementioned chip storage unit 59 functions to store a plurality of chips 58 composed of a short cylindrical pipe with diameter of 3mm and length of 15mm for example, a lower part is formed of a conical cylindrical body, a lid 59a is provided in an upper end opening part to be opened and closed freely,

and a lower end opening part is connected to the aforementioned chip guide tube 63. Then, this chip storage unit 59 is fixed and supported by the upper end portion of the storage unit support plate 61, then added with vibration by a vibration device not shown, and vibrates together with a thin support plate 61, and send the chip 58 to the chip supply control device 62 sequentially through the chip guide tube 63.

A main body of the chip supply control device 62 is constituted of a cylinder member 67 and a piston member 68, and in the piston member 68, a loose hole 68a formed so as not to collide with the fluid draining pipe 51 when this member 68 is moved, and a chip storage hole 68b for storing and sending the chip 58 one by one, are provided in such a way as to vertically pass through the piston member 68 respectively. Then, the piston member 68 has a rightward sliding behavior by an extendable coil spring 69. Then, at a position moved rightward, the other end of the chip guide tube 63 attached to the cylinder member 67 and the chip storage hole 68b are corresponded, and one chip 58 is stored in this hole 68b. In addition, when the aforementioned solenoid 64 is energized, the aforementioned piston member 68 connected to a plunger 64a of this solenoid 64 is moved leftward against the elastic force of the spring 69, the aforementioned chip storage hole 68b is corresponded to the chip guide hole 65b bored on the guide pipe 65, and the stored chip 58 is supplied to the aforementioned chip

insertion/removal pipe 66.

The guide pipe 65 is formed of the cylindrical body, having an outward protruding edge on the upper end portion, and a center hole serves as a fluid draining pipe guide hole 65a for inserting the fluid draining pipe 51. Moreover, the chip guide hole 65b is bored in parallel to this fluid draining pipe guide hole 65a. The chip insertion/removal pipe 66 is formed of an elastic deformable material such as plastic, and inside the pipe has a structure in which the inner diameter is changed from the upper end portion continuously in three stages such as a conical part, an intermediate diameter portion, and a small diameter portion. Then, a cross-shaped slitting split 66a in horizontal cross section is provided in a range from the small diameter part to the middle of the intermediate diameter part, and further, an extensible ring-shaped coil spring 71 is fitted to the outer periphery of the upper site of the outward protruding edge of the lower tip end portion. Therefore, normally, by the elastic force of the spring 71, the slitting split 66a is closed, and the chip 58 supplied through the guide hole 65b is guided by the conical part and reaches the intermediate diameter part, and is set in a stand-by state by being positionally regulated by the small diameter part at this intermediate diameter part.

Note that as shown in FIG.4, an arrangement position of the fluid draining device 7 is defined, so that the lower tip end portion of the fluid draining pipe 51 corresponds to a part

closer to the outer peripheral edge portion of one of the placement members 42 in the aforementioned transfer device 6. The position of the placement member 42 corresponding to the fluid draining pipe 51 is called a fluid draining position hereunder. In addition, a step is formed in the outer peripheral surface of the tip end portion of the fluid draining pipe 51, and the tip end portion is adapted to be easily fitted into the inner peripheral surface of the chip 58, and regulate so that the chip 58 is not fitted into the fluid draining pipe 51 more than needed. Further, the outer diameter of the fluid draining pipe 51 is selected so as to be slightly smaller than the outer diameter of the chip 58, and at the time when the fluid draining pipe 51 returns upward, the upper end surface of the chip 58 collides with the lower end surface of the chip insertion/removal pipe 66, and the chip 58 automatically drops from the fluid draining pipe 51.

In order to remove unnecessary fluid from inside the petri dish 4 placed on the aforementioned transfer device 6 and moved to the fluid draining position by the fluid draining device 7 thus constituted, first, the solenoid 64 is driven and the piston member 68 is made to slide leftward, the chip storage hole 68b is corresponded to the chip guide hole 65b, and the chip 58 that drops into the chip storage hole 68b and previously stored therein is supplied to the chip insertion/removal pipe 66 by its own weight through the chip guide hole 65b. Then, the chip 58 engages

with an inclined step surface between the intermediate diameter portion and the small diameter portion, stops at the intermediate diameter portion, and is set in a stand-by state, because normally the slitting split 66a is in a closed state. Next, by driving the motor 55, thereby moving the belt 53, the support member 52 is descended downward. Then, the fluid draining pipe 51 fixed to this member 52 is also descended together with the support member 52, and the tip end portion thereof advances into the chip insertion/removal pipe 66 from the inside of the fluid draining pipe guide hole 65a of the guide pipe 65. Then, this tip end portion is brought into contact with the chip 58 in a stand-by state at the position of the intermediate diameter part, and a tip end thin diameter portion of the fluid draining pipe 51 is engaged with the center hole of the chip 58 and the chip 58 is closely fitted to the fluid draining pipe 51. When the fluid draining pipe 51 is further descended, the chip 58 forcibly advances into the small diameter part, and the slitting split 66a is pressed and opened against the elastic force of the spring 71, and the inner diameter of the small diameter part becomes large. Accordingly, the fluid draining pipe 51 forcibly advances into the small diameter part and protrudes, with the chip 58 mounted thereon from the tip end portion of the chip insertion/removal pipe 66, and further continues to descend. Then, the tip end portion of the chip 58 is collided with a part closer to the outer peripheral part of a bottom surface wall

of the petri dish 4, with a lid 4a opened by a lid opening/closing device 78 as will be described later, the sliding member 41 and the placement member 42 are turned against the elastic force of the spring 43, then the motor 55 is stopped, with the petri dish 4 slightly inclined, and a descent of the fluid draining pipe 51 is stopped. Next, the suction pump not shown is driven, and the fluid in the petri dish 4 is discharged to a prescribed waste tank (not shown) through the chip 58, the fluid draining pipe 51, and the fluid draining tube 49. At this time, the petri dish 4 is pressed by the chip 58 and is set in a slightly inclined state. Therefore, the fluid in the petri dish 4 is collected in the vicinity of the tip end opening of the chip 58, and all of this fluid is sucked and discharged without being remained in the petri dish 4.

When the aforementioned suction pump is operated for a constant period of time, and discharge of the fluid in the petri dish 4 is completed, the motor 55 is rotated this time in a direction opposite to the direction described above, and the fluid draining pipe 51 starts to return upward. Then, first, the petri dish 4, the placement member 42, and the sliding member 41 pressed through the chip 58 returns to a horizontal position by the elastic force of the spring 43, with a pressing force released. Subsequently, when the fluid draining pipe 51 moves upward until the upper end surface of the chip 58 collides with the lower end surface of the chip insertion/removal pipe 66,

the chip 58 can not move upward any more by the aforementioned collision, only the fluid draining pipe 51 advances into the chip insertion/removal pipe 66, the chip 58 and the fluid draining pipe 51 are disengaged, the chip 58 drops by its own weight and is automatically stored in the chip storage tank outside the culture chamber 3 (not shown). At this time, it is a matter of course that an already used chip 58 that drops is retained in the petri dish 4, etc., so as not to drop by an appropriate guide means.

The aforementioned fluid feeding device 8 is a device for feeding into the petri dish 4 three kinds of necessary fluids such as cleaning fluid, enzyme solution, and culture fluid, and as shown in FIG.1 and FIG.2, is constituted of storage vessels 72a, 72b, 72c for storing the aforementioned cleaning fluid, enzyme solution, and culture fluid; a cooling storage tank 73 for storing these storage vessels 72a, 72b, 72c and storing them at a low temperature of about 1°C to 4°C; roller pumps 74a, 74b, 74c for feeding each fluid in the storage vessels 72a, 72b, 72c to the petri dish 4; warmers 75a, 75b, 75c for warming each fluid sent by these roller pumps 74a, 74b, 74c up to the same temperature as an atmosphere temperature of the culture chamber 3 (for example, 37°C); and a fluid feeding tubes 76a, 76b, 76c for guiding the aforementioned each fluid to a fluid feeding position.

In the same way as a normal refrigerator, the aforementioned cooling storage tank 73 cools the inside of the

tank by utilizing a swelling and exothermic or endothermic phenomena of a refrigerant at the time of compressing, and detects in-tank temperature by a temperature sensor not shown, whereby a compressor (not shown) is operated based on this output, and in-tank is controlled so as to be maintained at a constant temperature.

This cooling storage tank 73 is provided so as to cool and store the aforementioned each fluid to prevent deactivation of the enzyme in the enzyme solution or vitamin and amino acid in the culture fluid, because when the enzyme solution and the culture fluid are stored for a long period of time under a high temperature condition, the enzyme in the enzyme solution (for example, trypsin) is deactivated or vitamin and amino acid in the culture fluid are deactivated.

The aforementioned roller pumps 74a, 74b, 74c are already publicly-known, with the main body constituted of a rotary roller (not shown) and an arm (not shown) for pressing this roller against a fluid sending tube, and by pressure-rotating the roller, the fluid in the fluid sending tube is fed. These roller pumps 74a, 74b, 74c have an advantage that a fluid feeding amount can be accurately controlled by the number of rotations of the roller. In addition, the aforementioned warmers 75a, 75b, 75c incorporates a heater (not shown) and a temperature sensor (not shown), and function to increase the temperature of the fluid flown from the warmers 75a, 75b, 75c up to the same constant

temperature as the temperature of the culture chamber 3, by controlling energization to the heater based on the output of the temperature sensor. When the fluid cooled and stored in the cooling storage tank 73 is directly fed to the petri dish 4 in the culture chamber 3, the cultured cells in the petri dish 4 are killed or metamorphosed by the rapid change of the temperature condition. Therefore in order to prevent such a phenomenon, these warmers 75a, 75b, 75c are provided.

Note that as shown in FIG.1 and FIG.4, fluid feeding ends of the fluid feeding tubes 76a, 76b, 76c are guided into the culture chamber 3 through the ceiling wall 48, so as to correspond to the center of one placement member 42 in the transfer device 6. The position of the placement member 42 immediately under the tubes 76a, 76b, and 76c is called a fluid feeding position hereunder. In addition, as shown in FIG.2, aeration filters 77a, 77b, 77c of about 0.2μ are respectively attached to the storage vessels 72a, 72b, 72c, whereby the intrusion of bacteria, etc., is prevented at the time of flowing of air into these vessels 72a, 72b, 72c, and storing and feeding of the culture fluid are performed in an aseptic condition.

In addition, as shown in FIG.4, a lid opening/closing device for opening and closing a lid 4a of the petri dish 4 during feeding and disposing the fluid is respectively disposed at an outer position in a direction of the diameter of the petri dish placement part 37 of the transfer device 6 which is moved to

a position corresponding to fluid feeding ends of the fluid feeding tubes 76a, 76b, 76c of the fluid feeding device 8, i.e. a fluid feeding position, and to a position corresponding to the tip end of the fluid draining pipe 51 of the fluid draining device 7, i.e. a fluid draining position, respectively. As shown in FIG. 7, this lid opening/closing device 78 is constituted of a pair of right and left arm members 79 and 81 for clamping the lid 4a of the petri dish 4 from both sides; a drive gear 82, with a base part of the arm members 81 on the right side integrally fixed thereto; a motor 84, with an output gear 83 engaged with this drive gear 82 attached to the output shaft; a connecting member 85, with one end portion fixed to the upper surface of a part closer to the base part of the arm member 81 on the right side and the other end portion extended leftward orthogonal to this member 81; a support shaft 86 set in the other end of this connecting member 85, with the middle of the arm member 79 on the left side slidably pivoted thereto; a taut coil spring 87 laid over the part closer to the tip end portion of the arm members 79 and 81, for urging the arm member 79 to turn clockwise around the support shaft 86, so that the tip end portion of the arm member 79 on the left side approaches the tip end portion of the arm member 81 on the right side; an adsorption piece 88 consisting of a ferromagnetic material fixed to the right lateral side of a rear end portion of the arm member 79 on the left side; and an electromagnet 89 disposed so as to face the adsorption

piece 88 in a state of turning to a position capable of clamping the lid 4a by both of the arm members 79 and 81. Note that partially circular arc-shaped cutout surfaces 79a and 81a are respectively formed on an inner side closer to the tip end portions of the both of the arm members 79 and 81, so as to easily clamp the lid 4a. In addition, normally, the turning of the arm member 79 by the elastic force of the spring 87 is sufficient to clamp the lid 4a with the tip end portions of both of the arm members 79 and 81 by a regulating means not shown, and is regulated at a position where an attracting magnetic force by the electromagnet 89 effectively acts on the adsorption piece 88.

When the lid 4a of the petri dish 4 is opened by the lid opening/closing device 78 thus constituted, first, the motor 84 is energized, this motor 84 is rotated counterclockwise, and the drive gear 82 is rotated clockwise around the support shaft 82a. Then, the arm member 81 placed in a stand-up position normally is turned clockwise together with the drive gear 82. In addition, the arm member 79 is also moved toward a horizontal position from the stand-up position together with the arm member 81. Then, in a stage just before both of the arm members 79 and 81 are set in the horizontal position, the electromagnet 89 starts to be energized this time. Then, the adsorption piece 88 that moves to the position facing the electromagnet 89 is attracted by the electromagnet 89, the arm member 79 is turned counterclockwise around the support shaft 86 against the elastic

force of the spring 87, and the tip end portion of the arm member 79 is retreated sideward from the position where it collides with the upper surface of the lid 4a. Then, when the arm members 79 and 81 move to the horizontal position by continuation of the rotation of the motor 84, energizing to the motor 84 is cut and the arm members 79 and 81 are stopped in the horizontal state and the energizing to the electromagnet 89 is also cut. Then, the arm member 79 released from a restraint by the attracting magnetic force of the electromagnet 89 is turned clockwise around the support shaft 85 by the elastic force of the spring 87 to clamp both lateral sides of the lid 4a by both cutout surfaces 79a and 81a of the arm members 79 and 81, thereby clamping this lid 4a. At this time, there is a slight gap between the protruding edge 42a of the placement member 42 of the transfer device 6 and the petri dish 4. Therefore the lid 4a slightly moves together with the petri dish 4, and is firmly clamped by both of the arm members 79 and 81. After the lid 4a is clamped by the arm members 79 and 81, the motor 84 is energized again, and is rotated clockwise opposite to the direction as described above. Then, the drive gear 82 is turned counterclockwise through the output gear 83, and is turned counterclockwise integrally in a state of clamping the lid 4a by the both of the arm members 79 and 81. When both of the arm members 79 and 81 return to the stand-up position, energizing to the motor 84 is cut and the motor 84 stops, and an opening operation of the lid 4a is

completed.

Next, when the opened lid 4a is put for closing on the petridish 4 again, first, in the same way as the opening operation, the motor 84 is energized and this motor 84 is rotated counterclockwise, and the drive gear 82 is turned clockwise through the output gear 83. Then, both of the arm members 79 and 81 move toward the horizontal position. Therefore, when the motor 84 is stopped at a time point where both of the arm members 79 and 81 reach the horizontal position, the both of the arm members 79 and 81 stop their movement, with the clamped petridish 4 put on the petridish 4. Next, when the electromagnet 89 is excited, the adsorption piece 88 that exists at a position facing this electromagnet 89 is attracted, and the arm member 79 is turned counterclockwise around the support shaft 86 against the elastic force of the spring 87, and is retreated sideward from the position where the tip end portion of the arm member 79 is brought into contact with the lateral side of the lid 4a. Subsequently, when the motor 84 is rotated clockwise opposite to the direction as described above, the both of the arm members 79 and 81 start to move toward the stand-up position, without clamping the lid 4a. Therefore, at the time point when both of the arm members 79 and 81 move to the position impossible to clamp the lid 4a again, the electromagnet 89 is demagnetized. Then, the arm member 79 is turned clockwise around the support shaft 86 by the elastic force of the spring 87, and is stopped

at a prescribed position by the regulating means not shown. Then, at the time point when the both arm members 79 and 81 return to the stand-up position, the rotation of the motor 84 is stopped. At this time, a closing operation of the lid 4a is completed.

As shown in FIG.1 and FIG.4, the aforementioned peel-off device 9 is disposed at one side of the transfer device 6 in the culture chamber 3, and as shown in FIG.8, is constituted of a solenoid 91 intermittently energized from a power supplying device not shown to generate vibration; a support member 92 for supporting this solenoid 91; a striking member 93 attached to the tip end portion of a plunger 91a of the solenoid 91; and a petri dish pressing member 94 fixed to the support member 92 and positioned just above the petri dish 4 placed on the transfer device 6. It is difficult to sufficiently peel-off the cultured cells after oxygen treatment from the growing surface of the petri dish 4 by only stirring operation by a dispensing device 11 as will be described later in detail. Therefore, this peel-off device 9 is provided for adding a crosswise vibration to the petri dish 4 and surely peeling-off the cells from the growing surface.

The aforementioned support member 92 is bent into a crank shape viewed from a side, and the base end portion is fixed to the aforementioned substrate 33. Then, the solenoid 91 is attached to the intermediate portion in a vertical direction of the support member 92. This solenoid 91 is fixed to the support

member 92, so that the tip end portion of this plunger 91a is directed to one lateral side of the petri dish 4 on the transfer device 6, with the plunger 91a passed through the opening 92a bored on the support member 92, and the aforementioned striking member 93 made of a material such as plastic or rubber not damaging the petri dish 4 even if it hits on the petri dish 4, is attached to the tip end portion of the plunger 91a. In addition, the tip end portion of the support member 92 horizontally extends to the upper site of the petri dish 4, and the aforementioned petri dish pressing member 94 made of the material such as plastic or rubber, etc., is fixed to the lower surface thereof. Note that a screw 91b for adjustment is provided in the solenoid 91, and by rotary-adjusting this screw 91b, a vibration force added to the petri dish 4 can be adjusted.

In order to add vibration to the petri dish 4 by the peel-off device 9 thus constituted and peel-off the cells, first, the current is intermittently fed to the solenoid 91. Then, the plunger 91a performs reciprocal movement in the right and left directions at a current energization period, and at a position where the plunger 91a moves in the left direction, the lateral side of the petri dish 4 or the lateral side of the lid 4a is stroke by the tip end portion of the striking member 93. Therefore, the petri dish 4 vibrates rapidly and periodically in a range where the petri dish 4 is allowed to move by the protruding edge 42a of the placement member 42. By this vibration,

the cultured cells in a liberated state is gradually peeled-off from the bottom surface, being the growing surface, in the petri dish 4, and if the vibration continues to be added for about one minute, the cultured cells are completely peeled-off from the bottom surface. During this peeling-off operation, the lid 4a sometimes receives a force in a direction that the lid 4a is detached from the petri dish 4 by vibration. However, the pressing member 94 is provided just above the lid 4a, thus eliminating a problem of detaching the lid 4a. Accordingly, there is no problem that the peeled-off cultured cells fall out of the petri dish 4.

As shown in FIG.1, the dispensing device 11, with main part disposed in the machine chamber 47, passes through the ceiling wall 48 of the culture chamber 3, and a dispensing operation part extends into the culture chamber 3. This dispensing device 11 functions to stir the culture fluid in the petri dish 4 by repeating suction/discharge for a plurality of times by a pipette 97 (see FIG.9) and dispense the culture fluid to a plurality of new petri dishes 4 supplied from the petri dish supply device 12 as will be specifically described later, and this device 11 is provided with a pipette supplying device 95 and a pipette releasing device 96. In this way, by providing the pipette supplying device 95 and the pipette releasing device 96, the pipette 97 can be replaced for each operation of stirring and dispensing of the culture fluid in one petri dish 4, because

when the stirring and dispensing of the culture fluid in a plurality of petri dishes 4 is performed by one pipette 97, there is a problem of generating mutual contamination between the petri dishes 4.

As shown in FIG. 9, an essential main part of the dispensing device 11 is constituted of a bellows pump 98 with the pipette 97 mounted on an suction end 98a; a turning arm 99 with this bellows pump 98 attached to a free end portion so as to be placed thereon; a rotary sliding shaft 101 with a base part of this rotary arm 99 fixed to the bottom surface; a bearing member 102 for rotatably and slidably supporting this rotary sliding shaft 101; a drive gear 103 attached to a part closer to the upper end portion of the rotary sliding shaft 101; an output gear 104 engaged with this drive gear 103; a rotation driving motor 105 with this output gear 104 fixed to the output shaft; a sliding solenoid 106 with the plunger 106a connected to the upper end portion of a rotation sliding shaft 101; and an extensible coil spring 107 wound on the plunger 106a for urging the rotation sliding shaft 101 downward.

The bellows pump 98 is already publicly-known, and has a short cylindrical outer shape, and a tube-shaped suction end 98a is protruded downward from the center position of the lower end surface. Then, a flange 98c is provided in the middle of this suction end 98a, and an extensible coil spring 108 is wound between this flange 98c and the pump 98. As shown in FIG.11,

the bellows pump 98 is arranged so as to be freely mounted or removed on/from the rotary arm 99 by fitting the suction end 98a into the cutout 99a provided on the tip end portion of the rotary arm 99. Therefore, when the bellows pump 98 is mounted on the tip end portion of the rotary arm 99 by fitting the base end portion of the suction end 98a into the cutout 99a, the coil spring 108 functions to firmly fix the bellows pump 98 into the rotary arm 99 by urging the rotary arm 99 and the flange 98c in a direction separated from each other. In addition, the coil spring 108 also functions to make a fitting force constant between the suction end 98a and the pipette 97, by allowing the suction end 98a to move against the elastic force of the spring 108 when the pipette 97 is fitted into the suction end 98a. In this way, the bellows pump 98 is freely mounted or removed on/from the rotary arm 99. This is because sterilization is enabled by removing the bellows pump 98 independently. Note that the tip end portion of the suction end 98a is tapered so as to have a smaller diameter toward tip end, whereby it is easily fitted into the pipette 97.

In FIG.9 again, the aforementioned bearing member 102 is formed of a cylindrical body having the flange part on the upper end portion, and is fitted into a through hole bored on the ceiling wall 48 of the culture chamber 3, and is prevented from falling off by the flange part so as to be fixed to the ceiling wall 48. This bearing member 102 is provided with a ball bearing

mechanism 109 in a part closer to the upper and lower end portions on the inner peripheral surface, with the rotation sliding shaft 101 formed of a cylindrical body fitted thereinto, and supports this rotation sliding shaft 101 rotatably and slidably. In addition, the aforementioned output gear 104, with an engaging face widely formed compared to the drive gear 103, is adapted to always maintain an engaging state between the output gear 104 and the drive gear 103 even if the rotation sliding shaft 101 moves in a vertical direction. Further, the solenoid 106 and the motor 105 are housed in a housing 111, and fixed to this housing 111 or a substrate 111a integrally formed with this housing 111.

Note that although not particularly shown in the drawings, this dispensing device 11 is provided with several positional detection sensors, whereby a turning position of the rotary arm 99 is automatically controlled at an appropriate prescribed position. In addition, as shown in FIG.4, at a position where the rotary arm 99 turns most clockwise, the suction end 98a of the bellows pump 98 corresponds to a part closer to the outer peripheral edge portion of one placement member 42 of the transfer device 6. A position of the placement member 42 corresponding to the suction end 98a of the bellows pump 98 or a position of the bellows pump 98 corresponding to the placement member 42 are called a dispensing position hereafter. In addition, at an outer position in a diameter direction corresponding to the

placement member 42 of the transfer device 6 that exists in this dispensing device, the same lid opening/closing device 78 as that arranged so as to correspond to a fluid feeding position and a fluid draining position is arranged. It is a matter of course that this lid opening/closing device 78 functions to open the lid 4a from the petri dish 4 at the time of dispensing operation and put the lid 4a again on the petri dish 4 at the time of finishing the operation.

As shown in FIG.1 and FIG.2, with the main body thereof disposed in a part closer to a right end rear portion of the machine chamber 47, the pipette supply device 95 is adapted to supply the pipette 97 to the dispensing device 11 one by one. As shown in FIG.10, an essential main part of this pipette supply device 95, with the center part fixed to a rotary shaft 112, is constituted of a rotary disc 113 formed with a plurality of pipette storing cutouts 113a at equal intervals on the outer peripheral edge portion; a pipette supplying lever 114 that engages with the pipette 97 stored and held by the aforementioned pipette storing cutout 113a to make it drop from the cutout 113a; a solenoid 115 for making this pipette supplying lever 114 retreat to a non-supply position; a torsional spring 116 for urging the pipette supplying lever 114 toward a supply position; a housing 117 storing the rotary disc 113 and the pipette supplying lever 114, etc., with a through hole 117a for passing through the pipette bored on a part of the bottom surface so as to correspond to

the opening (not shown) bored on the ceiling wall 48 of the culture chamber 3; a shutter plate 118 air-tightly and slidably disposed on the lower surface of the bottom wall of this housing 117 by a guide means not shown, with the opening 118a corresponding to the through hole 117a bored thereon; a shutter drive lever 119 with one arm end connected to this shutter plate 118; a shutter driving solenoid 121 with the other arm end of this shutter drive lever 119 connected to a plunger 121a; a pipette receiving member 122 disposed at a position in the culture chamber 3 corresponding to the through hole 117a (see FIG.11); and a coil spring 123 for absorbing impact disposed at a further low site of this pipette receiving member 122 (see FIG.11).

The aforementioned pipette storing cutout 113a has a shape that a key groove-shaped vertical groove is bored on the inner peripheral surface of a vertical hole with slightly larger inner diameter than the outer diameter of the pipette 97 so as to be symmetrical at a position corresponding to inner/outer directions of the diameter of the rotary disc 113, and the vertical groove in an outer diameter direction is communicated with the outer periphery of the disc 113, and at a part of the upper surface of the disc 113 around this cutout 113a, a shallow recessed part 113b that engages with a locking projection 97a protruded at a symmetrical position on the upper end portion of the pipette 97 is formed. This recessed part 113b is symmetrically provided on the right side relative to the vertical groove in the outer

diameter direction and on the left side relative to the vertical groove in the inner diameter direction, respectively. This recessed part 113b functions to regulate the pipette 97, which is inserted from an upper side into the cutout 113a, engaged with the recessed part 113b and held at a storing position, so as not to move extremely.

The aforementioned pipette supplying lever 114 is formed of an L-shaped plate, slidably pivoted on the support shaft 124, wound on the support shaft 124, and has a behavior of turning clockwise around the support shaft 124 by the torsional spring 116 having a closing leg behavior, with one end locked by one arm of the lever 114 and the other end locked by a stopper pin 125, respectively. The turning of the lever 114 by this behavior is normally regulated by collision of the other arm end of the lever 114, with the tip end of the plunger 115a of the solenoid 115. Then, at this regulating position, a pipette engagement part 114a protruded to one side of the one arm end of the lever 114 retreats from the engagement position between the pipette engagement part 114a and the pipette 97 stored in the cutout 113a. In addition, when the solenoid 115 is energized, the plunger 115a is pulled into the solenoid 115, and therefore the lever 114 is turned clockwise around the support shaft 124 by the elastic force of the spring 116, making the lateral side of one arm collide with the stopper pin 125, and moves to the engagement position where the pipette engagement part 114a can

engage with the projection 97a of the pipette 97.

The aforementioned shutter drive lever 119 is slidably pivoted on the support shaft 126, with a long hole 119a bored on one arm end fitted into a pin 127 set on the shutter plate 118, thus being connected to the shutter plate 118. In addition, the shutter drive lever 119 is connected to the solenoid 121, with a long hold 119b bored on the other arm end fitted into a pin 128 set on the plunger 121a. When the solenoid 121 is energized, the plunger 121a is pulled into the solenoid 121, and the shutter drive lever 119 is turned clockwise around the support shaft 126, to make the shutter plate 118 slide to a position where the opening 118a coincides with the through hole 117a of the housing 117. Then, by coincidence of both holes 117a and 118a, the pipette 97 already pushed into the cutout 113a by the lever 114 drops into the culture chamber 3 through both holes 117a, 118a and the through hole of the ceiling wall 48.

Thereafter, when the energization to the solenoid 121 is cut, the plunger 121a is projected from the solenoid 121, and the shutter plate 118 automatically returns to a closing position.

As shown in FIG. 11, the aforementioned pipette receiving member 122 is formed of a cylindrical body split into two in a vertical direction, having a slightly larger inner diameter than the outer diameter of the pipette 97. In addition, a half part 122a on the side of dispensing position is arranged so as to be opened and closed by the support shaft 122b, and normally

has a behavior of turning counterclockwise around the support shaft 122b by an elastic means not shown, and collides with the other half part and stops. This pipette receiving member 122 is disposed at a pipette receiving position, whereby the pipette 97 that drops into the culture chamber 3 from the housing 117 is fitted into a center hole through or not through an appropriate guide means, and the projection 97a of the pipette is held so as to collide with an upper end opening peripheral edge. In addition, the coil spring 123 is wound and formed so as to be thinner than the outer diameter of the pipette 97, whereby the lower end portion of the pipette 97 is fitted into the pipette receiving member 122 while dropping, the impact by the drop of the pipette 97 is absorbed while slightly increasing a wound diameter at this time, the pipette 97 is locked shock-absorbingly by the pipette receiving member 122, and a rebound of the pipette 97 is prevented. As shown in FIG.12, the pipette receiving position, in which the pipette receiving member 122 is disposed, corresponds to a turning locus of the bellows pump 98. When the dispensing device 11 makes the bellows pump 98 turn to the pipette receiving position and makes a rotation sliding shaft 101 descend, the suction end 98a of the pump 98 is fitted into the upper end opening of the pipette 97 received and positioned by the pipette receiving member 122, and the pipette 97 is mounted on the suction end 98a. Then, after the rotation sliding shaft 101 is returned to the upper side, this shaft 101 is rotated

counterclockwise, and the bellows pump 98 is moved toward the dispensing position. In this state, by the pipette 97 fitted to the suction end 98a, the half part 122a of the pipette receiving member 122 is pressed and moved, turned with the support shaft 122b as a center and opened, and the pipette 97 is taken out at the dispensing position, in a state that the pipette 97 is mounted on the bellows pump 98. Then, the half part 122a is turned around the support shaft 122b by the elastic force of the elastic means not shown, and returns to the pipette receiving state in which the half part 122b collides with the other half part.

Meanwhile, as shown in FIG.1, the aforementioned pipette releasing device 96 is provided in the culture chamber 3, and as shown in FIG.11, the pipette releasing device 96 is constituted of a turning shaft 131; a cam lever 132 fixed to this turning shaft 131; a taut coil spring 133, with one end locked to this cam lever 132, for giving to this lever 132 a behavior of turning clockwise, with a rotary shaft 131 as a center; and a stopper pin 134 for regulating the turning of the cam lever 132 by the elastic force of this coil spring 133 to a prescribed pipette releasing position (see FIG.12).

In the aforementioned cam lever 132, there are formed a pair of wedge-shaped cam parts 132a and 132b in one arm end which is largely extended from the turning shaft 131, for separating off the flange 98c of the bellows pump 98 and the pipette 97 when being fitted between them; and a cutout 132c for passing

through the suction end 98a of the bellows pump 98 after the above-described separation is completed. The wedge-shaped cam parts 132a and 132b are formed so as to extend in the diameter direction again after they are set up once, to prevent the movement of the suction end 98a, and a wall part 132d for colliding with the stopper pin 134 is integrally formed in one cam part 132a. In addition, the cutout 132c is formed in a vertical direction between both cam parts 132a and 132b. In a normal position in which the cam lever 132 is engaged with the stopper pin 134, as shown in FIG.12, the cutout 132c corresponds to the turning locus of the suction end 98a of the bellows pump 98. Note that the aforementioned turning shaft 131 performs rotation of a constant angle counterclockwise against the elastic force of the spring 133 by a rotary solenoid, etc., not shown, and when such a rotation of a constant angle occurs, the cam lever 132 is retreated from the turning locus of the bellows pump 98.

The pipette releasing device 96 thus constituted is positioned at a pipette releasing position where the cam lever 132 is engaged with the stopper pin 134 when the bellows pump 98 is turned toward the pipette receiving position from the dispensing position to discard a used pipette 97 by the dispensing device 11. Accordingly, when the bellows pump 98 is turned to the tip end position of the cam lever 132, with the pipette 97 mounted thereon, the suction end 98a of the pump 98 is fitted-in between the wedge-shaped cam parts 132a and 132b, and the flange

98c is abut on an upper inclined plane of the cam parts 132a and 132b, and also the upper end surface of the pipette 97 is abut on the lower surface of the cam parts 132a and 132b. Then, when the bellows pump 98 is further turned from this state, the flange 98c is pressed up by the upper inclined plane of the cam parts 132a and 132b, and the flange 98c and the pipette 97 are pushed wide by the upper inclined surface of the cam parts 132a and 132b. Therefore, the pipette 97 fitted to the suction end 98a is detached from the suction end 98a, drops toward the lower side by its own weight, and thus releasing of the pipette 97 is performed. The dropped pipette 97 passes through a pipette guide member (not shown) arranged at the lower side, and is guided and stored in a pipette storing tank (not shown) provided outside the culture chamber 3. The pipette 97 thus stored is collected and recovered later, washed, sterilized, and reused. Note that in order to prevent contamination in the culture chamber 3 by ventilation between the pipette storing tank and the culture chamber 3, a dust-proof and bacterium-proof filter consisting of a thin film filter made of silicon rubber is provided between them. In addition, the bellows pump 98 further continues to turn after releasing the used pipette 97, and moves to the pipette receiving position once, thereafter retunes to the dispensing position again by reverse of the rotation direction of the rotary sliding shaft 101, and is set in a stand-by state until the next pipette mounting operation.

Next, when the bellows pump 98 is returned to the dispensing position, with a new pipette 97 mounted on the dispensing device 11, the pipette releasing device 96 functions to rotate the turning shaft 131 counterclockwise, make the cam lever 132 turn against the elastic force of the spring 133, and make the cam lever 132 retreat from the turning locus of the bellows pump 98. Therefore, the bellows pump 98 returns to the dispensing position, with the pipette 97 mounted thereon, without colliding with the cam lever 132, and after being free of rotation force of the rotary shaft 131 thereafter, the cam lever 132 returns to the pipette releasing position where it collides with the stopper pin 134 by the elastic force of the spring 133.

As shown in FIG.1 and FIG.2, the aforementioned petri dish supplying device 12 is formed in such a way that the main body part is arranged in the rear middle of the machine chamber 47 and from this main body part, a shooter 135 for guiding the petri dish extends into the culture chamber 3. As shown in FIG.1 and FIG.13, the essential main part of the body part of the petri dish supplying device 12 is constituted of a petri dish housing part 136 for housing a sterilized petri dishes 4 by obliquely stacking them; a circular transfer part 137 communicated with the lower end portion of the laboratory housing part 136, in order to take out the petri dishes 4 one by one from this part 136 to sent them to the shooter 135; a housing 138 surrounding this circular transfer part 137, with the bottom surface wall

also serving as the bottom surface wall of the circular transfer part 137; a rotary shaft 139 provided in the center of the circular transfer part 137; a rotary arm 141, with a base part fixed to this rotary shaft 139, and with a free end portion hit on the petri dish 4 so as to pushedly move this petri dish 4; an opening 137a for sending the petri dish, bored on the bottom surface wall at a position almost facing the petri dish housing part 136; a shutter plate 142 air-tightly and slidably arranged on the lower surface of the bottom surface wall of the housing 138 by a guide means not shown, with opening 142a corresponding to the opening 137a bored thereon; a shutter driving lever 143, with one arm end connected to this shutter plate 142; and a shutter driving solenoid 144, with a plunger 144a connected to the other arm end of this shutter driving lever 143.

The aforementioned shooter 135 for guiding the petri dish is constituted of a tube body, with its sectional shape formed into a laterally long square shape for passing through the petri dish 4, passes through the ceiling wall 48 while gently winding like a slide, and extends toward inside the culture chamber 3 from the machine chamber 47. An opening 135a of its upper end at the petri dish sending side faces the opening 137a bored on the bottom surface wall of the housing 138 through a gap whereby the shutter plate 142 can slide. In addition, as shown in FIG. 4, the opening 135b of its lower end at the petri dish sending side corresponds to the upper site of one placement member 42 in the

transfer device 6. Then, the petri dish 4 that reaches the opening 135b through the shooter 135 drops onto the placement member 42 by its own weight, and is placed on this member 42. The position of the placement member 42 just under this opening 135b is called a petri dish supplying position hereafter.

As described above, the aforementioned petri dish housing part 136 is adapted to house the petri dishes 4, by obliquely stacking them, and as shown in FIG.13, when the petri dish 4 sent to the circular transfer 137 from the petri dish housing part 136 is pushed and moved by the rotary arm 141, the petri dish 4 positioned on a lowermost site is automatically sent into the circular transfer part 137 by their own weight of the petri dishes 4 stacked on the upper site. The aforementioned rotary arm 141, with a free end portion extended toward the peripheral wall of the circular transfer part 137, is formed with a claw part 141a on one side in its rotational direction, to hook the petri dish 4 sent from the housing part 136. When the rotary shaft 139 is rotated counterclockwise by a motor not shown, this rotary arm 141 thereby turns counterclockwise, hooks the petri dish 4 sent from the housing part 136, pushes and moves it along the inner peripheral wall of the circular transfer part 137, and moves the petri dish 4 to a stand-by position ahead of the opening 137a once, and stops. Then, at the time of supplying the petri dish, the rotary arm 141 starts to turn again counterclockwise, and supplies the petri dish 4 to the shooter

135 through the opening 137a and the opening 142a of the shutter plate 142 that moves so as to correspond to the opening 137a in synchronization with the turning of the rotary arm 141.

The aforementioned shutter driving lever 143 is slidably pivoted on the support shaft 145, makes a long hole 143a bored on one arm end fit into a pin 130 set on the shutter plate 142, and is connected to this plate 142. In addition, the shutter driving lever 143 is connected to the solenoid 144, with a pin 146 set on the plunger 144a fitted into a long hole 143b bored on the other arm end. When the solenoid 144 is energized, this shutter driving lever 143, with the plunger 144a projected from the inside of the solenoid 144, turns thereby counterclockwise around the support shaft 145, and allows the shutter plate 142 to slide up to the position where the opening 142a is coincident with the opening 137a of the housing 138. In a state that both holes 137a and 142 are coincident with each other, it is matter of course that the petri dish 4 pushed and moved by the rotary arm 141 drops into the shooter 135 through the both holes 137a and 142a. When energizing to the solenoid 144 is canceled, the plunger 144a is pulled into the solenoid 144, and the shutter plate 142 automatically returns to a shutter closing position.

According to the laboratory supplying device 12 thus constituted, every time the rotary arm 141 carries out one rotation, the petri dishes 4 stacked in the housing part 136 are taken out to the circular transfer part 137 one by one, and

also the petri dishes 4 are sent to the shooter 135 one by one through the openings 137a and 142a. Therefore, the petri dishes 4 are automatically supplied onto the placement member 42 of the transfer device 6 one by one.

As shown in FIG. 1 and FIG. 2, the aforementioned observation device 14 is formed of a microscope at a position closer to the front part of the right side wall of the case 2 so that an eyepiece part is protruded outside and an object part and a light source part are housed in the culture chamber 3, and is also formed into a so-called inverted shape wherein the light source part is placed at the upper site relative to the object part. The eyepiece part is formed in the same way as a normal microscope, while the object part is formed so as to electrically form a driving mechanism of an object lens 147, because the object lens 147 must move from outside for focusing. Namely, as specifically shown in FIG. 15, the driving mechanism of the object lens 147 is constituted so that the object lens 147 is mounted on an upper end inner peripheral surface, and a male helicoids screw 148a is engraved on the outer peripheral surface of an outward directed flange formed closer to the upper end portion, and the essential main part thereof is constituted of an optical axis sliding cylinder 148, with a guiding long hole 148b in an optical axis direction bored on a part of a lower outer peripheral surface; a bearing cylinder 151 fitted into the lower outer periphery of this optical axis sliding cylinder 148, with a lower end portion

fixed to a nonmovable body 149 (see FIG.14) of the microscope; a guide pin 152, with a head part housed in a recess portion bored on the outer peripheral surface of this bearing cylinder 151 so as to be screwed into this cylinder 151 and its tip end portion fitted into the guiding long hole 148b of the optical axis sliding cylinder 148; a rotary cylinder 154, with a lower inner peripheral surface rotatably fitted into the outer periphery of the bearing cylinder 151 through a ball bearing mechanism 153 and a female helicoids screw 154a screwed and engraved on an upper inner peripheral surface screwed into the male helicoids screw 148a of the optical axis sliding cylinder 148 and a gear 154b engraved on the outer peripheral surface of the outward directed flange of the upper end outer periphery; an output gear 155 engaged with the gear 154b of this rotary cylinder 154; and a motor 156, with this output gear 155 attached to the output shaft.

Note that an index 140 consisting of a light absorber showing an action range of this lens 147 is applied on the peripheral surface of one side of a barrel of the object lens 147, and an optical sensor 150 is provided so as to face this index 140.

This optical sensor 150 detects whether or not there is the index 140 at a position facing this sensor 150, and when no index 140 is detected, an alarm is given by a buzzer (not shown) because the object lens 147 exists outside the action

range, and stops the rotation of the motor 156 for driving the object lens. In addition, the motor 156 can be rotated normally or inversely by an operation of a switch member (not shown) provided outside.

The aforementioned lens 147 is arranged so as to be disposed just under one placement member 42 in the laboratory transfer device 6, and as shown in FIG. 4, the optical axis is approximately coincident with a center axis of the placement member 42. The position of the placement member 42 just above this object lens 147 is called an observation position. Accordingly, the cultured cells in the petri dish 4 placed on the placement member 42 at the observation position can be observed from the lower surface side through the object lens 147.

Note that in FIGs. 1 and 2, reference numeral 157 shows an eyepiece lens, and in FIG. 14, reference numeral 158 shows a relay optical system for optically connecting the object lens 147 and the eyepiece lens 157, respectively. Further, although not particularly shown, inside of the culture chamber 3 is maintained to have high humidity, and therefore the object part of the observation device 14 is formed in a moistureproof structure in which O-rings and packing are heavily used.

In order to perform focusing of the object lens 147 by the object part of the observation device 14 thus constituted, the outside switch member is operated to rotate the motor 156 clockwise or counterclockwise. Then, the rotary cylinder 154

is rotated counterclockwise or clockwise through the output gear 155, the optical axis sliding cylinder 148 whose rotation is regulated by the pin 152 and the long hole 148b is advanced and retreated in the optical axis direction, by the action of female helicoid screw 154a and male helicoid screw 148a. Therefore, while the cultured cells 10 in a transparent petri dish 4 are observed from the eyepiece lens 157, the switch member is operated when it becomes a just in-focus state, and the rotation of the motor 156 is stopped. Note that when a focusing direction is erroneously deviated from an action allowable range of the object lens 147, the optical sensor 150 no more detects the index 140. Therefore, warning or automatic stop of the motor 156 is performed. Accordingly, there is no problem that an object surface of the object lens 147 hits on the petri dish 4, etc., to destroy the petri dish 4, etc., or scratch the lens.

Meanwhile, as shown in FIG. 14, an illumination light source part of the observation device 14 is formed of an illumination device 160 accommodating a light source lamp 161 and a condenser lens 162 in an armor cylinder 159 having a moistureproof structure, wherein the armor cylinder 159 is fitted into a through hole bored on the ceiling wall 48, and the upper end flange of this cylinder 159 is fixed to the ceiling wall 48 by a screw 163, which is then suspended in the culture chamber 3. It is matter of course, that the optical axis of this illumination device 160 is coincident with the optical axis of the object lens 147.

In addition, a moistureproof glass plate 164 is fitted into the lower end opening of the armor cylinder 159 through an annular pressing member 166 and an O-ring shaped packing member 165, not to be any obstacle to emitting illumination lights. Further, although not particularly shown, in this illumination device 160, exchange of filters, etc., can be performed from the side of the machine chamber 47, thus making it possible to adjust the illumination lights without disturbing an atmosphere in the culture chamber 3.

Note that the observation device 14 is constituted by arranging a diaphragm ring in the illumination device 160, and arranging a phase plate in an observation optical system, respectively, and can also be used as a phase difference microscope. Moreover, an optical system for photographing is attached to the eyepiece part, and the cultured cells in this petri dish 4 can be photographed without taking out the petri dish outside the culture chamber 3.

Incidentally, although not particularly shown, in the culture chamber 3, a warming/humidifying device for warming and humidifying inside of the culture chamber 3, a spare heat-retaining device for retaining inside of the culture chamber 3 to a prescribed temperature, a carbon dioxide gas/air supplying device for maintaining pH of a culture medium in the culture chamber 3 to an appropriate value (about 7.2), and an ultraviolet ray sterilizer for sterilizing the inside of the culture chamber

3, and a clean air blower for performing cleaning of the air in the culture chamber 3, are respectively attached.

The aforementioned warming/humidifying device is constituted of a water tank for storing water for humidifying; a heater for heating the water in this water tank; a temperature sensor for detecting the temperature of the water in this water tank; a temperature adjusting unit for keeping a water temperature to a constant value (for example, 37°C) by controlling energization to the heater based on an output of this temperature sensor; a blower for sending humidified air in an upper part of the water tank to the culture chamber 3; and a blowing pipe for connecting the warming/humidifying device and the culture chamber 3. This device stores the water poured through a water filling opening, warms it by the heater so as to be maintained to 37°C (within $\pm 0.1^\circ\text{C}$) accurately for example. Then, humidified warm air in the upper part of the water tank is blown by the blower, which is thereby sent into the culture chamber 3 through the blowing pipe and simultaneously the air in the culture chamber 3 is flown backward, and the inside of the culture chamber 3 is warmed and humidified.

The aforementioned spare warming device is constituted of the heater evenly arranged in the inner peripheral surface portion or the outer peripheral surface portion of the culture chamber 3; and the temperature adjusting unit for detecting and controlling the temperature of this heater, thus warming the

inside of the culture chamber 3 to a temperature closer to a target temperature (for example, 37°C) than the periphery and to a temperature lower than this target temperature (for example, 35°C). In this way, by previously warming the culture chamber 3, even if there is an uneven air flow in the culture chamber 3 caused by the warming/humidifying device, it is possible to prevent a defect that the temperature is largely different depending on the place.

The aforementioned carbon dioxide gas/air supplying device function to maintain the pH of the culture fluid in the petri dish 4, being the culture medium, to an appropriate value (about 7.2), by making constant a carbon dioxide gas concentration in a gas atmosphere in the culture chamber 3, and is constituted of a cylinder filled with carbon dioxide gas; an air pump for introducing air from outside; a gas flowmeter for measuring a flow rate of gas; an electromagnetic valve for controlling the flow rate of the gas; and an air feed pipe for connecting them. This device is adapted to mix in an appropriate ratio (carbon dioxide: 5%, air: 95%) the carbon dioxide gas regulated to an appropriate pressure by the cylinder and taken out, and the air introduced from the outside by the air pump through an air take-in port, and send the mixture thus obtained into the culture chamber 3.

The aforementioned ultraviolet ray sterilizer functions to turn-on an ultraviolet ray lamp and sterilize unwanted

bacteria by irradiation of ultraviolet rays when the inside of the culture chamber 3 is being contaminated or is already contaminated, and is constituted of an operation switch for controlling the ultraviolet ray lamp and a blink of this lamp. Incidentally, a sterilizing method by ultraviolet rays has a defect that a place not directly irradiated with the ultraviolet rays is not sterilized. However, in a case of this automatic culture device 1, the inner wall surface of the culture chamber 3 and the surface of devices arranged in this chamber 3 are selected to be a polished surface such as stainless as much as possible, and the ultraviolet rays are reflected by this mirror surface action, and even the rear sides of the devices are irradiated with the ultraviolet rays, thus making it possible to perform sterilization over further wide range.

The aforementioned clean air blower is constituted of a high pressure blower and a filter with high performance, and sends sterilized wind into the culture chamber 3 from the outside (for example, 150 l/min or more), thus performing drying and cleaning in the culture chamber 3. This device is suitably actuated at a non-culture time, and is used for previously cleaning the inside of the culture chamber 3.

In addition, a front surface wall in the culture chamber 3 is glazed, so that the inside of the culture chamber 3 can be directly observed by the naked eye from the outside. However, in order to prevent dew condensation, freely opened and closed

outer door is provided so as to cover the front surface. A heater and a moisture sensor are installed on this outer door, and this door is warmed to about 37°C to 40°C slightly higher than the inside of the culture chamber 3. By this warming, the temperature of an inside glass window is prevented from dropping.

As shown in FIG.1, the control device 13 is constituted of a computing processor such as a microcomputer incorporated in a display and operation panel 167 provided on the front left side part of the case 2; an input/output device accompanying this computing processor; and a power supplying device, etc. In the display and operation panel 167, a temperature display part 168 for displaying the temperature in the culture chamber 3 composed of a liquid crystal display plate, etc., is provided on its upper front side, and a temperature adjusting knob 169 for adjusting the temperature in the culture chamber 3 is arranged in its lower site. Further, a plurality of each kind of operation members 171 for controlling the action of this automatic culture device 1 are provided in a row in its lower site.

Each kind of program such as a carrying-in/carrying-out program of the petri dish 4, a fluid draining program, a fluid feeding program, a stirring program, and a dispensing program are programmed in the computing processor, and a series of operation of this automatic culture device 1 required for automatic culture is controlled, based on these programs. Namely, by driving the motor and the solenoid incorporated in

the already described each kind of devices, reading the output of the sensor, and performing energization to the heater, the automatic culture device 1 automatically executes a series of operation required in the subculture of the cells.

The automatic culture device 1 for the cells according to the present invention is constituted as described above.

Next, the operation of this automatic culture device 1 will be explained with reference to a flowchart as shown in FIG. 16, along with an embodiment of the method for automatically culturing cells according to the present invention.

First, when a power supply switch (not shown) of the automatic culture device 1 is operated, and this device 1 is set in an action state, the warming/humidifying device, spare heat-retaining device, carbon dioxide gas/air supplying device, etc., are actuated, and the inside of the culture chamber 3 is automatically set in a constant atmosphere (temperature: 37°C, humidity: 100%, carbon dioxide gas concentration: 5%) suitable for the cell culture.

Next, when a culture order switch (not shown) of the automatic culture device 1 is operated, the carrying-in/carrying-out device 5 is actuated, thus moving each belt conveyor 23, 26, 29 in a carrying-in direction of the petri dish 4, and a carrying-in step of the petri dish 4 is started. Namely, when the petri dish 4 containing the cell to be cultured is placed on a tray 32, which is then sent into the

carrying-in/carrying-out device 5, this petri dish 4 is sequentially carried by the belt conveyor 29, 26, 23, and is transferred into the culture chamber 3. In the middle of this transfer, the belt conveyor 23 carries out turning of fixed angle clockwise around the support shaft 23a simultaneously with opening of the shutter 24, and its inner end portion is fitted into the cutout 42b of the placement member 42 at the carrying-in/carrying-out position. Therefore, the petri dish 4 is automatically set on the placement member 42 by a carrying force of the belt conveyor 23. Setting of the petri dish 4 on the placement member 42 is detected by the carrying-in/carrying-out sensor, and based on the output of this sensor, the action of the carrying-in/carrying-out device 5 is stopped. Thus, simultaneously with the closing of the shutter 24, the belt conveyor 23 carries out turning of a fixed angle counterclockwise around the support shaft 23a, and returns to a normal position inclined from a horizontal position, and its inner end portion is retreated from inside of the cutout 42b of the placement member 42.

After action of the carrying-in/carrying-out device 5 is stopped, subsequently the transfer device 6 as shown in FIG.4 is turned clockwise (in FIG.4), and is moved to an observation position from the carrying-in/carrying-out position. Here, an operator confirms that the petri dish 4 containing the cell to be cultured is set at a prescribed position in the culture chamber

3, by the observation device 14, and when this is confirmed, operates a culture continuation order switch. Then, subsequently, a fluid draining step of the culture fluid is started. In this step, first, the transfer device 6 is automatically transferred clockwise, and the petri dish 4 is moved to the fluid draining position from the observation position. Next, the lid opening/closing device 78 corresponding to the fluid draining position is actuated, and the lid 4a of the petri dish is opened. Subsequently, the solenoid 64 of the fluid draining device 7 (see FIG. 6) is actuated, and the chip 58 is supplied into a chip insertion/removal pipe 66. Then, the motor 55 is actuated, and with the movement of the driving belt 53, the fluid draining pipe 51 is gradually descended. The fluid draining pipe 51, with the chip 58 in the chip insertion/removal pipe 66 fitted to its tip end portion in the middle of its descent, penetrates through the chip insertion/removal pipe 66, thereby making the tip end of the chip 58 proceed into the petri dish 4 at the fluid draining position to push and move the petri dish 4, and stops at a position where this petri dish 4 is slightly tilted. Subsequently, a suction pump not shown is actuated for a prescribed time, sucks the culture fluid in the petri dish 4 from the lower end opening of the chip 58 and discharges it. Next, the motor 55 is rotated in an opposite direction to a direction described above, and with the movement of the driving belt 53, the fluid draining pipe 51 is returned

to the upper side. When the fluid draining pipe 51 ascends, the petri dish 4 returns to a horizontal posture, and the fluid draining pipe 51 makes the upper end surface of the chip 58 collide with the lower end surface of the insertion/removal pipe 66 in the middle of its ascent, and makes the chip 58 drop from its tip end portion. Then, at the time point when the fluid draining pipe 51 returns to a prescribed position, the rotation of the motor 55 is stopped, and the fluid draining pipe 51 returns to a normal position. An already used chip 58 that drops from the tip end portion of the fluid draining pipe 51 is taken out to the outside of the culture chamber 3 through a guide means not shown, and is housed in a chip preservation tank arranged at a place closer to the bottom part of the case 2, and is discarded later. Thereafter, the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the petri dish 4 is closed.

Subsequently, a cleaning fluid pouring step is started. In this step, first, the transfer device 6 is turned counterclockwise (in FIG.4), and the petri dish 4 is moved from the fluid draining position to the fluid feeding position. Next, the lid opening/closing device 78 corresponding to the fluid feeding position is actuated, and the lid 4a of the petri dish 4 is opened. Subsequently, a roller pump 74b as shown in FIG.2 is actuated, and the cleaning fluid is fed into the petri dish 4 by a constant amount (for example, 3cc) through the roller pump 74b, the warmer 75b, and the fluid feeding tube 76b. Then,

the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the petri dish 4 is closed. As described above, this cleaning step is performed for washing away old culture fluid adhered to the cell to be cultured so that the enzyme can effectively act in the enzyme processing step that follows.

Next, the fluid draining step after cleaning is performed for discharging the cleaning fluid poured into the petri dish 4 in the cleaning fluid pouring step to the outside the petri dish 4. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG.4 is rotated clockwise and the petri dish 4 is moved to the fluid draining position from the fluid feeding position. Then, thereafter, absolutely in the same way as the fluid draining step of the culture fluid as is already described, discharge of the cleaning fluid is performed from the petri dish 4.

Then, when the fluid draining step of the cleaning water is finished, the pouring step of the enzyme solution is started. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG.4 is turned counterclockwise, and the petri dish 4 is moved to the fluid feeding position from the fluid draining position, and the lid opening/closing device 78 is actuated, to open the lid 4a of the petri dish 4. Next, the roller pump 74c as shown in FIG.2 is actuated, and the enzyme solution is fed into the petri dish 4 by a constant amount (for example, 3cc) from the inside of the storage vessel 72c, through the roller pump 74c, the warmer 75c, and the fluid feeding tube 76c. Subsequently,

the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the petri dish 4 is closed, and the petri dish 4 stands for about one minute on the placement member 42. The petri dish 4 stands for sufficiently making the enzyme (for example, trypsin) in the enzyme solution act on the cell to be cultured implanted in the bottom surface of the petri dish 4, and surely liberating the cell to be cultured from the bottom surface of the petri dish 4, being a growing surface. Next, the fluid draining step of the enzyme solution poured into the petri dish 4 is performed in the pouring step of the enzyme solution poured into the petri dish 4. This fluid draining step is performed absolutely in the same way as the fluid draining step of the cleaning fluid, and therefore detailed explanation is omitted here. Then, after the fluid draining step of this enzyme solution is completed, the petri dish 4 stands on the placement member 42 for about ten minutes. Such a stationary of the petri dish 4 is performed to promote the liberation between the cells and the growing surface by the enzyme solution remained and adhered to the cultured cells, decrease the coupling between respective cells, and urge the isolation of the cultured cells.

When the stationary of the petri dish 4 is finished, next, a peel-off step of the cells is performed. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG.4 is rotated clockwise, and the petri dish 4 is moved to the peel-off position from the fluid draining position. Subsequently, energization to the

solenoid 91 of the peel-off device 9 as shown in FIG. 8 is performed by intermittently energizing the solenoid 91 for about one minute, by continuously striking the lateral sides of the petri dish 4 or the lid 4a by the striking member 93, thereby adding vibration to the petri dish 4 in a lateral direction. When this vibration is added, the cultured cells in a state of liberation receives a deviating force in the lateral direction from the bottom surface of the petri dish 4, and is surely peeled-off from the bottom surface by its own inertia based on this deviating force.

Next, after the aforementioned peel-off step is finished, in order to isolate the cell thus peeled-off, first, the poring step of the culture fluid is performed. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG. 4 is rotated counterclockwise, and the petri dish 4 is moved to the fluid feeding position from the peel-off position. Next, the lid opening/closing device 78 is actuated, and the lid 4a of the petri dish 4 is opened, and subsequently the roller pump 74a as shown in FIG. 2 is actuated. Thus, the culture fluid is fed into the petri dish 4 by a constant amount (for example, 3cc) through the roller pump 74a, the warmer 75a, and the fluid feeding tube 76a. Then, the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the petri dish 4 is closed.

Subsequently, a stirring step of the culture fluid is performed. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG. 4 is rotated clockwise, and the petri dish 4 is moved

to the dispensing position from the fluid feeding position. Meanwhile, at the same time, the pipette supplying device 95 as shown in FIGs.10 to 12 is actuated, and the pipette 97 is supplied to the pipette receiving member 122 and held thereby. Then, the rotary sliding shaft 101 of the dispensing device 11 (see FIGs.9, 11, and 12) is rotated counterclockwise, and the bellows pump 98 is moved to the pipette receiving position from the dispensing position. Subsequently, the rotary sliding shaft 101 is descended, and the suction end 98a of the bellows pump 98 is engaged with the upper end opening of the pipette 97, and the pipette 97 is mounted on the bellows pump 98. Then, when the cam lever 132 is turned counterclockwise, with the turning shaft 131 as the center, and is temporarily retreated from the engagement position with the pipette 97, the rotary sliding shaft 101 is moved upward this time, and is subsequently rotated clockwise, and the bellows pump 98 on which the pipette 97 is mounted is returned to the dispensing position from the pipette receiving position. Next, the lid opening/closing device 78 corresponding to the dispensing position is actuated, and the lid 4a of the petri dish 4 is opened. Subsequently, the rotary sliding shaft 101 is descended again, and the tip end portion of the pipette 97 is fitted into the petri dish 4 at the dispensing position, and its descent is stopped, with this petri dish 4 pressed and slightly tilted. Next, the bellows pump 98 is sucked and actuated, and the culture fluid in the

petri dish 4 is sucked into the pipette 97 by a constant amount (for example, 3cc). Therefore, when passing through a thin suction port of the pipette 97, the cultured cells in a peel-off state in the petri dish 4 is mutually separated, is further isolated, and is sucked into the pipette 97 together with the culture fluid. After suction of this culture fluid, the rotary sliding shaft 101 is ascended again, and the bellows pump 98 is actuated in a discharge direction, with the pipette 97 positioned at a higher position, and the culture fluid in the pipette 97 is discharged into the petri dish 4 again together with the cultured cells. Therefore, the cultured cells are further isolated. The suction/discharge of the culture fluid by the pipette 97 is repeated ten times, and the culture fluid is sufficiently stirred and the cultured cells are completely isolated.

After the aforementioned stirring step, subsequently, the dispensing step of the culture fluid is performed. In this step, first, the rotary sliding shaft 101 is descended, and the culture fluid containing the cultured cells isolated is sucked into the pipette 97 by a constant amount (for example, 3cc) by a suction operation of the bellows pump 98. Subsequently, the lid opening/closing device 78 is actuated, and the lid 4a of the petri dish 4 is closed. In addition, at the same time, the petri dish supplying device 12 as shown in FIG.13 is actuated, and a new petri dish 4 is supplied and set onto the placement member

42 at the petri dish supplying position (this new petri dish 4 is called a first petri dish 4 hereunder). Subsequently, the transfer device 6 as shown in FIG.4 is rotated clockwise by one petri dish transfer part 37, and the petri dish supplying device 12 is actuated again, and one more new petri dish 4 is supplied and set on the placement member 42 at the petri dish supplying position (this new petri dish 4 is called a second petri dish 4 hereunder). Namely, two new petri dishes 4 are taken out and set on the adjacent placement members 42. Next, the transfer device 6 is rotated clockwise, and the first petri dish 4 is moved to the dispensing position. Then, the lid opening/closing device 78 is actuated, the lid 4a of the first petri dish 4 is opened, thereafter a discharge operation of the bellows pump 98 is performed, and the culture fluid containing the cultured cells isolated in the pipette 97 is discharged into the first petri dish 4 by half amount (for example, 1.5cc). Then, the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the first petri dish 4 is closed. Subsequently, the transfer device 6 is rotated clockwise by one petri dish transfer part 37, and the second petri dish 4 is moved to the dispensing position. Thereafter, the lid opening/closing device 78 is actuated, the lid 4a of the second petri dish 4 is opened, the bellows pump 98 performs discharge operation again, and remaining half amount of the culture fluid containing the cultured cells isolated in the pipette 97 is discharged into the second petri

dish 4. Then, the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the second petri dish 4 is closed.

In this way, the culture fluid contained in the first and second petri dishes 4 is only half of a prescribed amount, and is not sufficient for the culture of the cells. Therefore, a replenishing step of the culture fluid for replenishing the first and second petri dishes with the culture fluid by insufficient amount is next performed. In this replenishing step, first, the transfer device 6 as shown in FIG. 4 is turned counterclockwise, and the second petri dish 4 is moved to the fluid feeding position from the dispensing position. Next, the lid opening/closing device 78 is actuated and the lid 4a of the second petri dish 4 is opened. Thereafter, the roller pump 74a as shown in FIG. 2 is actuated, and the culture fluid is fed into the second petri dish 4 from the storage vessel 72a, by an insufficient amount (for example, 2cc) through the roller pump 74a, the warmer 75a, and the fluid feeding tube 76a. Then, the lid opening/closing device 78 is actuated again, and the lid 4a of the second petri dish 4 is opened. Subsequently, the transfer device 6 as shown in FIG. 4 is rotated again counterclockwise by one petri dish placement part 37, and the first petri dish 4 is moved to the fluid feeding position. Thereafter, the lid opening/closing device 78 is actuated, the lid 4a of the first petri dish 4 is opened, and the roller pump 74a as shown in FIG. 2 is actuated, and the culture fluid of insufficient amount (for example, 2cc)

is fed into the first petri dish 4. Then, the lid opening/closing device 78 is actuated and the lid 4a of the first petri dish 4 is closed.

After the replenishing step of the culture fluid is finished, a discarding step of an already used pipette 97 that remains in a state of being mounted on the dispensing device 11 (see FIGs. 9, 11, 12) is performed. Namely, the rotary sliding shaft 101 is rotated counterclockwise, and the bellows pump 98 is turned toward the pipette receiving position. Therefore, the bellows pump 98 moves to the tip end position of the cam lever 132 that returns to the pipette releasing position that engages with the stopper pin 134, and the suction end 98a is fitted between the wedge-shaped cam parts 132a and 132b, the tip end portions of both cam parts 132a and 132b are respectively fitted between the flange 98c and the pipette 97, and the pipette 97 is set apart from the suction end 98a. Therefore, the pipette 97 drops from the suction end 98a by its own weight, and is taken out of the culture chamber 3 through the guide means not shown, and is stored in the pipette preservation tank disposed at a part closer to the bottom part of the case 2. The rotary sliding shaft 101 makes the bellows pump 98 turn to the pipette receiving position once, then is inverted, and makes the bellows pump 98 return to the dispensing position and stops.

Subsequently, the discarding step of the petri dish 4 is performed, for taking out the already used old petri dish 4 after

taking out the culture fluid containing the isolated cultured cells, to the outside the automatic culture device 1. In this step, first, the transfer device 6 as shown in FIG.4 is rotated, and the old petri dish 4 is moved to the carrying-in/carrying-out position. Next, the carrying-in/carrying-out device 5 is actuated, and each belt conveyor 23, 26, 29 is moved in a carrying-out direction, and carrying-out of the petri dish 4 is started. Namely, when the shutter 24 is opened, simultaneously with this, the belt conveyor 23 is turned clockwise around the support shaft 23a, and the inner end portion is fitted into the cutout 42b of the placement member 42 at the carrying-in/carrying-out position, and the old petri dish 4 placed on this placement member 42 is placed on the conveyor 23 by the action of the engagement claw 23b and the carrying force of the conveyor 23. Then, the old petri dish 4 is sequentially carried on the belt conveyors 23, 26, and 29, which is then sent on the tray 32 by the carrying force of the conveyor 29. Therefore, this petri dish 4 is manually taken out from the tray 32, and the petri dish 4 thus taken out is discarded.

Then, as described above, the culture of the cells in a culture system of the second-generation prepared in the first and second petri dishes 4 are started. This culture step is performed by standing the first and second petri dishes 4 for a long time (for example, three days), in the culture chamber 3 maintained in a constant atmosphere. The cultured cells ,

in a floating state, isolated in the first and second petri dishes 4 sediment in the culture fluid when the petri dish 4 stands, is implanted in the bottom surface wall of the petri dish 4, and starts to proliferate by cell division, with this bottom surface wall as the growing surface. At this time, the culture fluid contains a rich nutritional source, and is maintained in the temperature and pH optimal for proliferation. Therefore, the cultured cells surely perform proliferation.

When a prescribed time required for proliferation is elapsed, a transfer order switch (not shown) provided in the automatic culture device 1 is operated to rotate the transfer device 6, and the first petri dish 4 is moved to the observation position. Then, by the observation device 14, a proliferation status of the cells in the first petri dish 4 is observed. In addition, in the same way, the proliferation status of the cells in the second petri dish 4 is observed. By this observation of the cells in the first and second petri dishes 4, the first and second petri dishes 4 stand when the proliferation status is not sufficient and the proliferation needs to be continued. In addition, when a prescribed proliferation status is obtained, and when it is further desired to prepare the culture system of the second-generation and perform the subculture, with the proliferated cells as the cultured cells, a culture continuation order switch is operated. Then, as shown in FIG.16, a process from the fluid draining step to the discarding step of the petri

dish 4 is performed for the first and second petri dish 4, further the culture system of the cells of the second-generation is prepared, and the culture of the third-generation of the cells is performed.

Then, when it is so determined that no more culture is needed by the observation of the cells in the first and second petri dishes 4, a carrying-out step of the first and second petri dishes 4 is performed. In the same way as the discarding step of the petri dish 4, this carrying-out step is performed so that the first and second petri dishes 4 are sequentially moved to the carrying-in/carrying-out positions by rotating the transfer device 6, and operating the carrying-in/carrying-out device 5 twice. Since the first and second petri dishes 4 thus carried-out are sequentially sent on the tray 32, these petri dishes 4 are manually taken out, and the cells grown in the petri dish may be used in a desired purpose, for example, in an experiment, etc.

As described above, according to the method and device of the present invention, all steps of the cell culture can be continuously performed in one culture chamber. Therefore, culture condition can be kept constant, and an environment is not disturbed, thus making it possible to always obtain a stable cultured cells.

In addition, a shutter mechanism and a filter mechanism for opening and closing a shutter mechanism and a filter mechanism

capable of being aseptically opened and closed are provided in a contact part between the culture chamber and the outside. Therefore, there is almost no risk of contaminating the cultured cells by bacteria and virus.

Further, a supplying mechanism and a discarding mechanism of the chip and the pipette are provided in the fluid draining device and the dispensing device. Therefore, contamination between respective petri dishes can be prevented.

Further, the culture fluid and the enzyme solution, etc., are preserved at a low temperature till use. Therefore, no inactivation of the medical agent and enzyme is caused and they are prevented from deteriorating and need not to be exchanged many times, thus reducing the risk of contamination.

Also, a peel-off mechanism and a stirring mechanism are made simple. Therefore, damage of the cells can be reduced, and the cells can be recovered at a high yield.

Further, by mechanically operating the dispensing/stirring/peeling-off the culture fluid, an accurate and always uniform operation is enabled compared to performing manually, and an operation content can be arbitrarily adjusted and changed.

Still further, a subculture operation, being a basic operation of the cell culture can be stably performed without contamination. As a result, advantages such as improving reliability of the experiment using the cultured cell, realizing

application to various culture experiments by arranging attached equipment such as a chemical liquid pouring unit, and realizing a safe and secure experiment with almost no risk of biohazard, can be obtained.

4. Brief description of the drawings

FIG.1 is a front sectional view of an essential part of an automatic culture device for cells showing an embodiment of the present invention.

FIG.2 is a plan view of a mechanical chamber of the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.3 is a sectional view of a carrying-in/carrying-out device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.4 is a plan view of a transfer device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.5 is a perspective view of a petri dish transfer part in the transfer device shown in FIG.4.

FIG.6 is a sectional view of the essential part of a fluid draining device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.7 is a perspective view of the essential part of a lid opening/closing device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.8 is a side view of a peel-off device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.9 is a sectional view of the essential part of a

dispensing device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.10 is a plan view of a pipette supplying device accompanied with the dispensing device.

FIG.11 is a perspective view of the essential part showing a disposing relation of the dispensing device shown in FIG.9 and a pipette releasing device shown in FIG.9.

FIG.12 is a plan view of the essential part showing a turning locus of a bellows pump in the dispensing device shown in FIG.9 and a positional relation of the pipette receiving member of the pipette supplying device shown in FIG.10 and a cam lever of the pipette releasing device shown in FIG.11.

FIG.13 is a plan view of a petri dish supplying device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.14 is a sectional view of an observation device disposed in the automatic culture device shown in FIG.1.

FIG.15 is an expanded perspective view of the essential part showing a driving mechanism of an object lens in the observation device shown in FIG.14.

FIG.16 is a flowchart showing a sequential step of an automatic culture method of cells showing an embodiment of the present invention.

- 1 Automatic culture device
- 3 Culture chamber

- 4 Petri dish (culture vessel)
- 5 Carrying-in/carrying-out device
- 6 Transfer device
- 7 Fluid draining device
- 8 Fluid feeding device
- 9 Peel-off device
- 11 Dispensing device
- 12 Petri dish supplying device
- 13 Control device
- 14 Observation device
- 78 Lid opening/closing device
- 95 Pipette supplying device
- 96 Pipette releasing device